

**DEVELOPPEMENT TECHNOLOGIQUE
ET PHARMACOCINETIQUE
D'UNE FORME GALENIQUE
A LIBERATION PROLONGEE
CONTENANT DE LA DROTAVERINE**

THESE

présentée à la faculté des sciences de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences, mention sciences pharmaceutiques

par

Marie-Hélène RUTZ-COUDRAY

de

VETROZ (Valais)

Thèse No 1849

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545927_0003

**DEVELOPPEMENT TECHNOLOGIQUE
ET PHARMACOCINETIQUE
D'UNE FORME GALENIQUE
A LIBERATION PROLONGEE
CONTENANT DE LA DROTAVERINE**

THESE

présentée à la faculté des sciences de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences, mention sciences pharmaceutiques

par

Marie-Hélène RUTZ-COUDRAY

de

VETROZ (Valais)

Thèse No 1849

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1977

La Faculté des sciences, sur le préavis de Messieurs P. Buri, professeur ordinaire et directeur de thèse, P. Boymond, professeur honoraire et J.-M. Aiache, professeur (Faculté de pharmacie, Clermont-Ferrand), autorise l'impression de la présente thèse, sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 13 décembre 1977

Le doyen :
Bernard LEVRAT

Thèse No 1849



J'exprime ici ma très vive reconnaissance au professeur P. Buri, tant pour son aide que pour l'intérêt et la disponibilité qu'il a bien voulu m'accorder au cours de ce travail entrepris sous sa direction.

Mes remerciements vont aux professeurs P. Boymond, professeur honoraire, qui a bien voulu faire partie du jury et J.M.J. Tronchet, président de la Section de pharmacie, qui a accepté de présenter cette thèse à la Faculté des sciences.

Ma gratitude s'adresse également au professeur J.M. Aiache, professeur agrégé à la Faculté de pharmacie de Clermont-Ferrand, qui a eu l'amabilité de siéger dans le jury de cette thèse.

Je tiens à exprimer ma vive reconnaissance à la direction de Labatec-Pharma S.A., qui m'a offert la possibilité de réaliser ce travail.

Je remercie le docteur L. Balant, privat-docent et chargé de recherche à la Faculté de médecine pour l'aide précieuse qu'il m'a apportée dans le traitement par ordinateur des résultats de pharmacocinétique.

Enfin, j'aimerais aussi remercier tous mes collègues du laboratoire de pharmacie galénique pour leur intérêt et leur collaboration, en particulier Madame J. Giust qui a si efficacement participé à toute la partie expérimentale de cette étude, Madame J. Blanc pour la dactylographie du manuscrit, Monsieur J.P. Vuagniaux pour la réalisation des schémas.

TABLE DES MATIERES

I.	Introduction et généralités	p.	1
I.1	Objectif de ce travail		1
I.2	Caractéristiques de la drotavérine		2
I.3	Intérêt d'une forme à libération prolongée de drotavérine		7
II.	Matrices insolubles		9
II.1	Principaux constituants des matrices insolubles		11
II.2	Mécanisme de libération de principes actifs incorporés aux matrices insolubles		12
II.3	Partie expérimentale		17
II.3.1	Choix de la matrice inerte		17
II.3.2	Test de dissolution <i>in vitro</i>		19
II.3.3	Solubilité de la drotavérine dans différents pH		21
II.3.4	Influence de la quantité d'éthylcellulose sur la libération de la drotavérine		23

II.3.5	Influence du mode de fabrication	p. 27
II.3.6	Conclusions	30
III.	Les coprécipités.	
	Coprécipité de drotavérine et incorporation dans la matrice cellulosique	31
III.1	Définition et historique	31
III.2	Méthode de fabrication	32
III.2.1	Fabrication proprement dite	32
III.2.2	Solvants	33
III.2.3	Véhicules	33
III.3	Mécanismes d'action des excipients sur la vitesse de dissolution	34
III.3.1	Solutions solides	36
III.3.2	Solutions de verre	38
III.3.3	Précipitation amorphe	40
III.3.4	Formation de complexes	40
III.3.5	Combinaisons de plusieurs mécanismes	41
III.4	Applications des coprécipités, revue de la littérature	41
III.5	Coprécipités et forme à libération prolongée	48

III.6	Partie expérimentale	p. 49
III.6.1	Fabrication du coprécipité de drotavérine + PVP	49
III.6.2	Influence de la concentration en PVP sur la vitesse de dissolution	49
III.6.3	Etude physico-chimique du coprécipité	54
III.6.3.1	Solubilité et vitesses de dissolution	54
III.6.3.2	Analyse granulométrique et vitesse d'écoulement	56
III.6.4	Intérêt du coprécipité de drotavérine	59
III.7	Coprécipité et Précirol	60
III.8	Coprécipités de drotavérine et éthylcellulose	63
III.8.1	Fabrication des comprimés de coprécipité de drotavérine et d'éthylcellulose	63
III.8.2	Influence de la concentration en éthylcellulose	63
III.8.3	Influence de la taille des particules d'éthylcellulose sur la vitesse de libération du principe actif	68
III.8.4	Influence de la taille des particules du coprécipité sur la vitesse de libération du principe actif	70
III.8.5	Influence de la force de compression sur la vitesse de libération du principe actif	71

III.8.6	Traitement mathématique des résultats	p. 73
III.8.6.1	Généralités	73
III.8.6.2	Résultats	74
III.8.6.3	Commentaires des résultats	85
III.9	Conclusions	87
IV.	Pharmacocinétique et essais <i>in vivo</i>	88
IV.1	Pharmacocinétique : définitions et objectif	88
IV.2	Pharmacocinétique et recherche d'une forme à libération contrôlée	90
IV.3	Facteurs représentatifs du comportement d'un médicament	90
IV.4	Modèles compartimentaux	98
IV.5	Paramètres variables en analyse compartimentale	103
IV.6	Analyse graphique	105
IV.7	Analyse sur ordinateur	110
IV.8	Partie expérimentale	111
IV.8.1	Protocole	111
IV.8.1.1	Administration intraveineuse	112
IV.8.1.2	Administration orale	112

IV.8.2	Mesure de la radioactivité	p. 113
IV.8.3	Traitement pharmacocinétique des résultats	114
IV.9	Résultats et analyse pharmacocinétique	116
IV.9.1	Taux plasmatiques	116
IV.9.2	Elimination urinaire	116
IV.9.3	Analyse graphique	119
IV.9.4	Analyse sur ordinateur	119
IV.10	Discussion	124
IV.10.1	Biodisponibilité sanguine et absorption gastro-intestinale	124
IV.10.2	Taux plasmatiques	125
IV.10.3	Temps de latence	126
IV.10.4	Métabolisme	126
IV.10.5	Elimination	127
IV.11	Techniques de simulation	127
IV.11.1	Simulation avec une solution contenant 37 mg de drotavérine administrée 3 fois par jour et simulation avec une solution contenant 150 mg de drotavérine administrée 1 fois par jour	129

IV.11.2	Simulation sur 3 jours avec une solution contenant 37 mg de drotavérine administrée 3 fois par jour et simulation sur 3 jours avec une solution contenant 150 mg de drotavérine administrée 1 fois par jour	p. 131
IV.11.3	Simulation avec la forme à action prolongée	132
IV.12	Administration des comprimés à libération contrôlée	134
IV.12.1	Fabrication des comprimés avec la drotavérine marquée	134
IV.12.2	Protocole	135
IV.12.3	Mesure de la radioactivité	136
IV.12.4	Résultats	136
IV.12.5	Discussion	139
IV.13	Conclusion	143
V.	Conclusions générales et résumé	144
	Bibliographie	147

I. Introduction et généralités

I.1 Objectif de ce travail

Il y a deux décennies déjà, le développement de formes galéniques libérant progressivement leur principe actif suscita, dans l'industrie pharmaceutique, un vif intérêt qui n'a cessé de croître jusqu'à ce jour, en particulier pour les formes solides destinées à la voie orale.

Dans cette optique, notre recherche s'est orientée vers l'élaboration de comprimés à libération prolongée contenant de la *drotavérine*, antispasmodique dérivé de la papavérine.

Nous nous proposons de décrire les différentes étapes qui ont conduit à la réalisation de cette forme médicamenteuse. Dans la première partie de ce travail, nous avons étudié une des nombreuses techniques permettant la préparation d'une forme à libération prolongée, soit les *matrices insolubles*. La deuxième partie relate l'association de la drotavérine à une *macromolécule hydrophile*, artifice utilisé pour augmenter la vitesse de dissolution du principe actif en milieu intestinal, donc pour en assurer la libération et une bonne biodisponibilité. La troisième partie étudie la *pharmacocinétique* de la drotavérine, décrivant

les phénomènes d'absorption, de transfert et d'élimination qui régissent le comportement de ce principe actif dans l'organisme humain. La forme galénique est testée *in vivo* par mesure des taux sanguins et par détermination de la quantité éliminée dans les fèces. Enfin, ces résultats sont comparés aux valeurs obtenues *in vitro*.

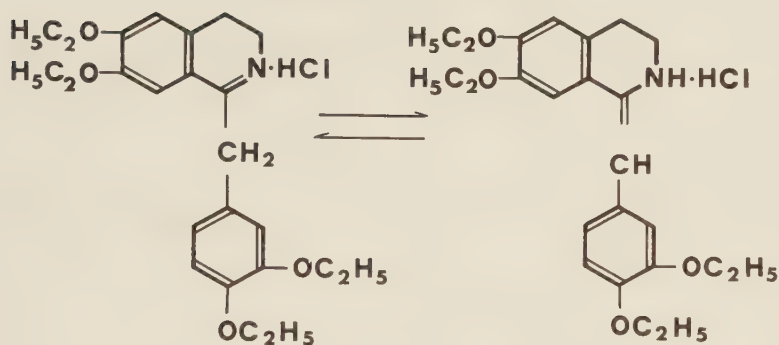
I.2 Caractéristiques de la drotavérine

La drotavérine est un composé dihydrogéné isoquinoléique dérivé de la papavérine. Utilisée sous forme de chlorhydrate, elle peut exister soit sous forme "benzyle" soit sous forme "benzylidène" (fig. 1). En solution aqueuse cependant, elle se caractérise par sa structure benzylidène¹.

Dans la suite du travail, par mesure de simplification lorsque le terme de drotavérine sera cité, il s'agira toujours du chlorhydrate de drotavérine.

Figure 1

*Chlorhydrate de drotavérine (DCI rec.) ou diéthoxy-6,7
(diéthoxy-3,4 benzylidène)-1 tétrahydro-1,2,3,4
isoquinoléine · HCl*



Forme benzyle

Forme benzylidène

La drotavérine se présente sous forme de cristaux monocliniques prismatiques brillants, jaune pâle. Elle est inodore et non hygroscopique.

Ses propriétés physico-chimiques sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1

Propriétés physico-chimiques de la drotavérine^{1,20}

Poids moléculaire	433,99	
Point de fusion	208-212°	
Solubilité à 25° [g/l]	- eau	30
	- éthanol 96%	60
	- méthanol	250
	- chloroforme	650
	- acétone	1
	insoluble dans l'éther, la benzine, le toluène et le xylol	
Densité	0,927	
Chaleur de combustion [Kcal/mol]	4,75 (+ 0,03)	
Chaleur de dissolution [Kcal/mol]	3300 (+ 50)	
pK _a	7,4	
Coefficient de partage apparent huile/eau 25° C	1,17 · 10 ⁻²	
Absorption UV, solutions aqueuses	Maximums [nm]	E ₁ ^{1%} 1 cm
	241-242	236
	302-303	224
	352-354	443

Du point de vue pharmacologique, cette molécule est douée d'une activité spasmolytique myotrope qui s'est révélée, lors de tests intra-artériels, être le double de celle de la papavérine². Elle possède en plus un effet vasodilatateur sur les coronaires, mis en évidence *in situ* sur les coeurs isolés d'animaux³.

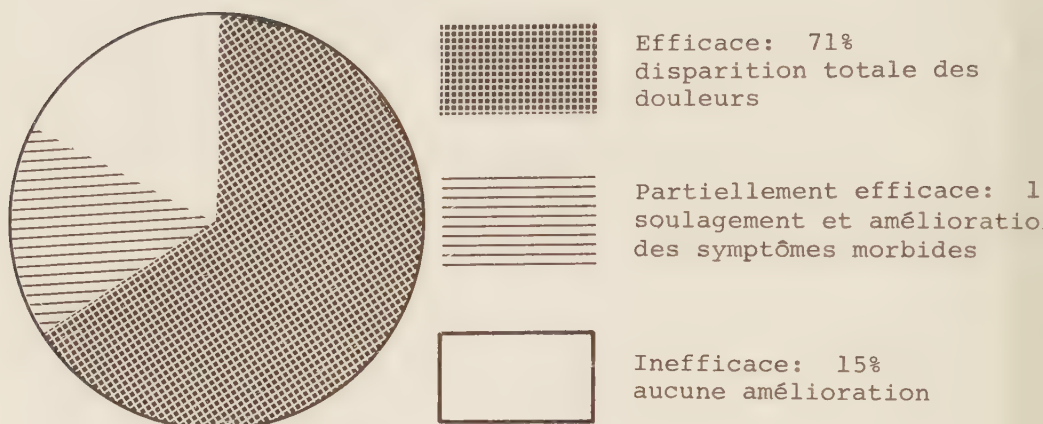
Quant à son effet vasodilatateur périphérique, il fut déterminé par enregistrement de l'augmentation de la circulation au niveau des extrémités⁴.

De faible toxicité, la drotavérine fut largement testée dans de nombreux domaines de la médecine : en gastro-entérologie contre les spasmes de la musculature lisse⁵⁻⁹, en cardiologie dans les insuffisances coronariennes aiguës ou chroniques¹⁰⁻¹⁴, en gynécologie pour combattre les spasmes lors de dystocies ou lors de dysménorrhées¹⁵⁻¹⁷, en oto-rhino-laryngologie pour lutter contre les contractions de différents muscles lisses¹⁸ et enfin en neurologie dans le traitement des maux de tête associés à des troubles cérébraux et vasomoteurs¹⁹.

Lors de tous ces essais cliniques, la drotavérine prouva son activité et sa bonne tolérance.

Figure 2

*Efficacité thérapeutique de la drotavérine
(1376 patients)*



La figure 2 montre l'efficacité thérapeutique de la drotavérine (NO-SPA^R, Chinoin, Budapest)²⁰. L'inefficacité du médicament se rencontre chez des patients généralement atteints de sclérose coronarienne, de tumeurs abdominales, cas dans lesquels un spasmolytique myotrope ne peut s'attendre à être actif. La dose journalière est de 120 à 240 mg par jour, correspondant à une posologie de 1 à 2 comprimés de 40 mg 3 fois par jour.

I.3 Intérêt d'une forme à libération prolongée de drotavérine

Une des principales raisons justifiant l'emploi d'une forme orale à libération prolongée est l'obtention d'un effet thérapeutique plus long que celui obtenu avec un médicament conventionnel. Cette forme est particulièrement intéressante car elle permet de maintenir dans l'organisme un taux constant en principe actif et une réponse pharmacologique plus uniforme; dans certains cas, elle peut réduire la fréquence ou l'intensité des effets secondaires indésirables²¹. De plus, elle évite l'administration de médicament durant la période nocturne, assurant ainsi au malade une nuit sous médication mais sans réveil. La réduction du nombre de prises dans la journée est également plus agréable pour le patient et diminue ainsi les risques de sous-dosage dus à l'oubli.

Tous ces avantages peuvent s'appliquer à des comprimés de drotavérine si une technologie adéquate permet la réalisation d'une forme bien absorbée, administrée à raison d'une à deux unités par jour au lieu de quatre à six comme le veut la posologie avec les comprimés conventionnels.

Devant l'abondance de termes désignant les différents types de préparations caractérisées par l'expression très générale de *libération contrôlée*, nous avons

adopté, pour qualifier la forme galénique développée dans ce travail, celui de *libération prolongée*²². Elle débute dès la mise en contact avec le milieu de dissolution, parfois cependant après un bref temps de latence, pour s'achever en 6 à 8 heures.

Les procédés technologiques permettant d'atteindre cet objectif sont nombreux et variés; ils ont déjà fait l'objet de plusieurs revues²²⁻²⁴ et il nous paraît inutile de les décrire ici (formation de complexes ou de sels peu solubles, enrobages partiellement solubles ou poreux, matrices diverses, etc.). Pour beaucoup d'entre eux, le mécanisme et la vitesse de libération dépendront plus ou moins des variables physiologiques rencontrées dans le tractus gastro-intestinal, telles que composition ionique ou enzymatique et pH des sucs digestifs, durée de vidange gastrique ou motilité intestinale.

II. Matrices insolubles

Parmi les différentes possibilités qui s'offrent pour l'élaboration d'une forme à libération prolongée, nous avons fixé notre choix sur les matrices insolubles, appelées également matrices plastiques ou inertes.

Il existe plusieurs processus de fabrication²³ :

- 1) Mélange des constituants sous forme de poudres ou de granulés suivi d'une compression directe.
- 2) Granulation du mélange principe actif + support à l'aide d'un solvant organique seul ou contenant une partie du plastique en solution.
- 3) Dissolution du principe actif dans le solvant contenant également la substance inerte en solution, évaporation, granulation et compression.

On obtient ainsi un système dispersé solide/solide du médicament dans les particules du plastique.

La principale caractéristique des matrices plastiques est donc d'être constituée d'un principe actif enfermé dans les réseaux d'une substance inerte, non dégradée et gardant la même forme et les mêmes dimensions pendant toute la durée du passage dans le tractus gastro-intestinal.

Cette dernière remarque s'oppose aux caractéristiques des matrices hydrophiles qui augmentent de volume au cours du processus de libération ou des matrices cireuses dont le support est progressivement détruit par hydrolyse enzymatique.

Ainsi, un des principaux avantages des matrices plastiques réside dans le fait que la libération du médicament dépend essentiellement de sa solubilité et de son coefficient de diffusion dans la matrice ainsi que de la structure de cette dernière. Elle n'est pas modifiée par des variations de pH ou d'activité enzymatique, par le temps de vidange gastrique ou par la motilité intestinale. Grâce à son inertie chimique et à sa résistance mécanique, le squelette plastique traverse le tractus digestif sans modification et il est éliminé tel quel dans les selles.

Ces caractéristiques sont particulièrement intéressantes et devraient permettre une vitesse de libération similaire chez chaque patient.

Une quantité plus ou moins importante de principe actif, localisée vers la couche externe du comprimé, est libérée rapidement et peut constituer une dose initiale. Dans le cas où cette dernière est insuffisante, le support insoluble peut être recouvert d'une couche constituée d'un excipient très soluble, donc destinée à se désagréger très rapidement, et contenant une fraction de la dose médicamenteuse.

II.1 Principaux constituants des matrices insolubles

Les matrices insolubles sont essentiellement constituées de polymères ou de copolymères. Leur consistance doit permettre, lors de la compression, la formation d'un squelette cohérent et poreux; de plus, ils doivent être non toxiques, biocompatibles et suffisamment perméables aux fluides gastro-intestinaux pour assurer la solubilisation du principe actif.

Le chlorure de polyvinyle (PVC) et le polyméthacrylate de méthyle sont les polymères qui furent parmi les premiers cités dans la littérature : le PVC entre dans la composition des comprimés du type Duretter^R (Hässle, Suède)²⁴⁻²⁶ et le second dans les Gradumets^R des laboratoires Abbott (USA). D'autres polymères ou copolymères sont employés tels que le polyéthylène, la polyvinylpyrrolidone (PVP), le polyhexaméthylène d'adipamide²⁷, les polymères ou copolymères acryliques non hydrophiles : méthacrylate de polyméthyle ou copolymères de méthacrylate de méthyle et d'acrylate d'alkyle. Viennent s'ajouter encore à cette liste, le polystyrène et les copolymères vinyliques comme les copolymères d'acétate de vinyle/chlorure de vinyle employés, par exemple, pour freiner la libération du chlorure de potassium²⁸.

Il faut encore citer les systèmes polymériques de silicone comme le diméthylpolysiloxane et ses dérivés, largement utilisés dans les implants pour la libération contrôlée de l'histamine, de l'atropine²⁹, des agents antimalariens ou des médicaments antischistosomiques³⁰ et surtout des stéroïdes contraceptifs³¹.

Parmi les polymères de type cellulosique, peu de substances conviennent à la réalisation de matrices insolubles. En effet, la majorité des dérivés de la cellulose gonflent au contact des liquides aqueux. Ce sont par contre d'importants agents viscosifiants pour les matrices hydrophiles. L'éthylcellulose cependant, constitue un excellent support pour la réalisation des matrices insolubles.

II.2 Mécanisme de libération de principes actifs incorporés aux matrices insolubles

Après compression du mélange constitué du médicament, du support inerte et d'éventuels autres adjuvants solubles ou insolubles, on obtient des comprimés dans lesquels la substance active est incluse dans un squelette parcouru de canalicules formés par les espaces interparticulaires. Les liquides digestifs pénétrant dans ces canalicules ou capillaires dissolvent le médicament, qui sera libéré progressivement par diffusion vers l'extérieur du réseau poreux.

L'équation de base proposée par Higuchi³², reprise par la suite par de nombreux auteurs, définit la quantité de substance libérée à partir d'une matrice insoluble :

$$Q = \frac{D \cdot \varepsilon}{\tau} (2A - \varepsilon C_s) C_s t$$

où Q = quantité de principe actif libéré par unité de surface au temps t

D = coefficient de diffusion du principe actif dans le milieu de dissolution

C_s = solubilité du principe actif dans le milieu de dissolution

ε = porosité de la matrice

τ = tortuosité de la matrice

A = concentration en substance active dans la matrice (= quantité de principe actif par unité de volume)

Cette équation, applicable pour une surface de libération plane unique, ne convient qu'aux systèmes où A est au minimum 3 ou 4 fois plus grand que C_s . Si la solubilité est élevée, c'est-à-dire si $A < C_s$, le principe actif ne sera présent que peu de temps à l'état solide; un autre modèle mathématique décrira alors ce cas.

L'équation ci-dessus montre que la libération, linéaire par rapport à $t^{\frac{1}{2}}$, dépend non seulement des caractéristiques du principe actif (concentration, solubilité, coefficient de diffusion), mais aussi de la structure de la matrice, c'est-à-dire de sa tortuosité et de sa porosité. Cette dernière joue un rôle très important. Elle correspond à la fraction de volume libre pouvant être occupé par le milieu de dissolution et disponible pour la diffusion.

*Desai et coll.*³³⁻³⁶ ont amplement étudié les applications et les limites de la relation d'*Higuchi*. Ils ont décomposé la valeur de la porosité totale ϵ_{tot} en plusieurs fractions :

$$\epsilon_{\text{tot}} = \epsilon_{\text{air}} + \epsilon_{\text{p.a.}} + \epsilon_{\text{divers}}$$

où ϵ_{air} = fraction de porosité due à l'air emprisonné dans le système au moment de la compression; représente la porosité totale avant la mise en contact avec le milieu de dissolution

$\epsilon_{\text{p.a.}} = \frac{A}{\rho_{\text{p.a.}}} =$ fraction de porosité due à l'espace libéré par le principe actif (de densité $\rho_{\text{p.a.}}$) dissous

$\epsilon_{\text{divers}} =$ fraction de porosité due à l'espace libéré par d'éventuels autres constituants solubles et dissous

Si le principe actif est le seul composant soluble, la porosité initiale augmente cependant au cours du temps par accroissement de l'espace créé par le médicament libéré selon l'expression :

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + KA$$

où ε_0 = porosité initiale

ε = porosité au temps t

K = volume spécifique de la substance active

A = quantité initiale de principe actif par unité de volume

On voit donc que la porosité, si elle est trop faible pour assurer une libération suffisante, peut être améliorée par adjonction de substances hydrosolubles, qui l'augmentent au fur et à mesure de leur dissolution au sein de la matrice. On peut citer le chlorure de sodium ou de calcium, le dextrose, le saccharose, le lactose, le sorbitol, l'urée, l'inositol, le mannitol, des polyéthylèneglycols (PEG) ou encore la gomme arabique ou la pectine²⁵.

Au contraire, si la libération est trop rapide, on pourra modifier la valeur de $\frac{D \cdot \varepsilon}{\tau}$ par adjonction de substances hydrophobes, par le choix d'un excipient inerte dont la tendance à former des capillaires est moins marquée

ou encore en élevant le degré de réticulation par l'emploi d'un liquide de granulation qui est un bon solvant pour le support³⁷.

La validité de la relation d'*Higuchi*³² et les processus de libération à partir des matrices inertes ont été étudiées également par d'autres auteurs, en particulier par *Singh et coll.*^{38,39}, *Sjögren*^{21,40-42}, *Rowe*⁴³, *Farhadieh*^{44,45} et *Ritschel*⁴⁶.

Pour résumer les différents travaux concernant les matrices insolubles, on peut dire que la libération dépend des facteurs suivants :

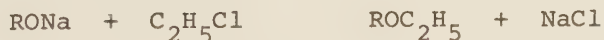
- Nature, concentration et dimension de l'agent formant la matrice.
- Surface totale et forme de la matrice.
- Concentration en principe actif.
- Solubilité du principe actif.
- Granulométrie du principe actif.
- Nature et quantité de solvant de granulation.
- Présence d'adjuvants hydrophiles ou hydrophobes.
- Facteurs technologiques tels que mode de granulation ou force de compression.

II.3 Partie expérimentale

II.3.1 Choix de la matrice inerte

En regard des différentes possibilités, citées précédemment, qui s'offrent dans le choix d'une matrice insoluble, nous avons recouru à l'éthylcellulose (EC). C'est une substance stable, peu sensible à l'humidité et compatible avec une gamme très large de composés. De plus, les organes de contrôle, dont la Food and Drug Administration, autorisent son emploi dans les produits alimentaires et pharmaceutiques. L'éthylcellulose, dans la pratique industrielle pharmaceutique, peut être utilisée aussi bien comme support dans la fabrication de matrices plastiques, comme liant dans la granulation de comprimés, comme composant de revêtement dans les dragées ou encore comme fixateur de substances aromatiques.

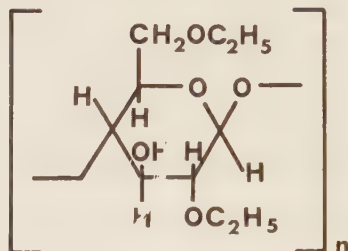
L'éthylcellulose est un éther cellulosique obtenu par réaction du chlorure d'éthyle sur la cellulose alcaline



R représente le radical cellulosique. La structure de la molécule de cellulose consiste en une chaîne d'anhydroglucose ou d'éléments de cellobiose liés par des ponts d'oxygène.

Ces longues chaînes possèdent une grande résistance que l'on retrouve dans l'éthylcellulose (fig. 3).

Figure 3



Les propriétés de flexibilité et de résistance à la traction de l'éthylcellulose peuvent être directement attribuées à cette structure. Chaque élément d'anhydroglucose possède 3 groupes OH échangeables qui, tous ou partiellement, peuvent réagir comme dans la réaction mentionnée ci-dessus⁴⁷. La substitution de ces groupes peut conduire à une teneur en éthoxyle variant environ de 44,5 à 49%, correspondant à un degré de substitution des groupes éthoxyle par élément d'anhydroglucose de 2,21 à environ 2,53.

A la suite d'essais préliminaires, nous avons choisi pour tous nos essais l'éthylcellulose N 200. Ce type correspond à 47,5 - 49,0% d'éthoxyle, soit à un degré de substitution par élément d'anhydroglucose de

2,42 - 2,53. La viscosité (200 cP) est déterminée à 25° C dans du toluène + éthanol (80 + 20), avec une solution à 5%, la substance étant séchée 30 minutes à 100° C.

II.3.2 Test de dissolution *in vitro*

Les méthodes de détermination de la vitesse de dissolution *in vitro* ont fait l'objet de très nombreuses publications et de quelques importants articles de revue, tels que ceux de Wagner⁴⁸, Cooper et Rees⁴⁹, Hersey⁵⁰ et Pernarowsky⁵¹. Ces travaux décrivent les procédés de mesure de dissolution, leurs caractéristiques, leurs avantages ou leurs inconvénients, sans toutefois se référer à une forme galénique particulière. Plusieurs de ces techniques, par contre, sont proposées pour des formes à libération prolongée⁵²⁻⁵⁹ mais peu d'auteurs en font une revue. Il faut cependant citer les travaux de Lazarus et Cooper^{60,61} et celui plus récent de Rowe⁴³.

Pour les comprimés qui font l'objet de ce travail, la méthode de choix doit être reproductible et simuler les conditions de pH rencontrées aussi bien dans l'estomac que dans l'intestin, puisque la libération s'étale sur 7 heures.

A la suite des bons résultats obtenus lors d'essais de reproductibilité (C.V. = 1,01), nous avons opté pour la méthode de Poole⁶² modifiée, déjà utilisée pour le contrôle de diverses formes à libération prolongée⁶³. Pour

la drotavérine, les volumes des milieux de dissolution sont suffisants pour assurer l'état "*sink*" et la vitesse d'agitation, modérée, est favorable à l'obtention de bonnes corrélations avec les conditions *in vivo*⁴⁰.

Mode opératoire

800 ml de milieu de dissolution sont introduits dans un ballon rodé à 3 cols de 1 litre. L'ensemble est thermostatisé à $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ C. L'agitation est assurée par une pale en téflon de 76 mm de longueur, placée à 35 mm du fond du ballon, fixée à l'extrémité d'une baguette de verre et entraînée par un moteur synchrone à 60 tpm. Le comprimé à tester est enfermé dans un panier cylindrique en verre polyacrylique (mailles 4 mm) de 45 mm de longueur et de 19 mm de diamètre. Le panier est introduit par un des cols latéraux et demeure dans une position déterminée grâce à une tige en téflon. Les prélèvements sont effectués avec une pipette préalablement enfilée dans un tube en verre muni à son extrémité d'un filtre en verre fritté G₂.

Tous les dosages sont effectués par spectrophotométrie à 300 nm. Les échantillons sont dilués de manière appropriée. Les résultats sont déterminés par comparaison avec une courbe d'étalonnage dans le milieu de dissolution correspondant.

Nous procédons généralement par renouvellement partiel du milieu de dissolution (= *half-change method*)⁶⁴. Dans cette technique, le comprimé enfermé dans son panier reste dans le même ballon contenant initialement du suc gastrique; chaque heure, la moitié du volume du milieu de dissolution est remplacée par du suc intestinal de façon à obtenir les pH suivants : 2,4 - 6,2 - 6,8 - 7,1 - 7,2 - 7,3. Cette méthode, qui simule les différents pH physiologiques, présente l'avantage d'éviter les situations critiques voisines de la saturation.

Cependant, lors des mesures de libération effectuées dans cette première partie du travail, le comprimé à tester séjourne 2 heures dans du suc gastrique artificiel (Ph. Helv. VI, pH 1,2) puis est retiré du ballon avec le panier et plongé dans un second ballon identique mais contenant 800 ml de suc intestinal artificiel (Ph. Helv. VI, pH 7,5) durant 5 heures.

II.3.3 Solubilité de la drotavérine dans différents pH

La solubilité de la drotavérine est déterminée à une température de 37° C dans trois milieux de pH différents, soit au pH de 1,2 (suc gastrique artificiel), au pH de 7,5 (suc intestinal artificiel) et au pH de 4,5 (suc gastrique 41,2 vol. + suc intestinal 58,8 vol.).

La solution est saturée en drotavérine et soumise à une agitation de 60 tpm. Après 24 heures, l'équilibre est atteint et des prélèvements sont effectués pour être analysés au spectrophotomètre à 300 nm.

L'adjonction d'une quantité de drotavérine supérieure à 1 g/l provoque une chute de pH qui entraîne une augmentation de la solubilité de la substance. C'est pourquoi, au cours de l'expérimentation, le pH a été contrôlé d'heure en heure et ramené lorsque nécessaire, au pH initial à l'aide d'une solution tampon de pH 10.

Les résultats des tests de solubilité sont exprimés dans le tableau 2.

Tableau 2

Solubilité de la drotavérine à différents pH à 37° C

pH	1,2	4,5	7,5
Solubilité g/l	12,5	22,9	0,2

La drotavérine est une substance dont la solubilité varie fortement avec le pH. Celle-ci est élevée aux pH de 1,2 et 4,5, mais est faible en pH alcalin. Il est par conséquent nécessaire de faire varier le pH du milieu de libération durant les tests de dissolution.

II.3.4 Influence de la quantité d'éthylcellulose sur la libération de la drotavérine

La concentration en éthylcellulose doit permettre d'obtenir des comprimés dont le squelette est suffisamment solide afin qu'ils puissent conserver leur forme intacte sans se désagréger durant la période de libération. La concentration sera donc choisie d'une part en fonction de la non désagrégation du comprimé et d'autre part en fonction de la vitesse de libération du principe actif.

Les différentes valeurs citées dans la littérature varient de 40 à 60% environ lorsque l'éthylcellulose constitue la seule substance utilisée pour former la matrice plastique^{46, 65, 66}, les autres composants étant des adjuvants. Ces proportions sont cependant réduites, dans certains cas, à environ 10% de la teneur en principe actif⁶⁷⁻⁷⁰. Dans ces derniers exemples, la compression est précédée d'une granulation avec un solvant organique qui solubilise partiellement l'éthylcellulose.

Nous avons testé plusieurs concentrations en fabriquant les comprimés par compression directe. Non seulement ce procédé est plus rapide mais il assure une meilleure libération du principe actif par rapport à une granulation par voie humide précédant la compression, comme nous le montrerons plus loin.

Les différents comprimés contiennent tous la même quantité de drotavérine, soit 150,0 mg. Le mélange de poudre est homogénéisé dans un mélangeur planétaire TURBULA. La compression s'effectue avec une presse hydraulique, assurant une bonne reproductibilité de la force de compression (Presse SPECAC, SG 25000, pression : 3200 kg/cm^2), munie d'un poinçon de 1,0 cm de diamètre.

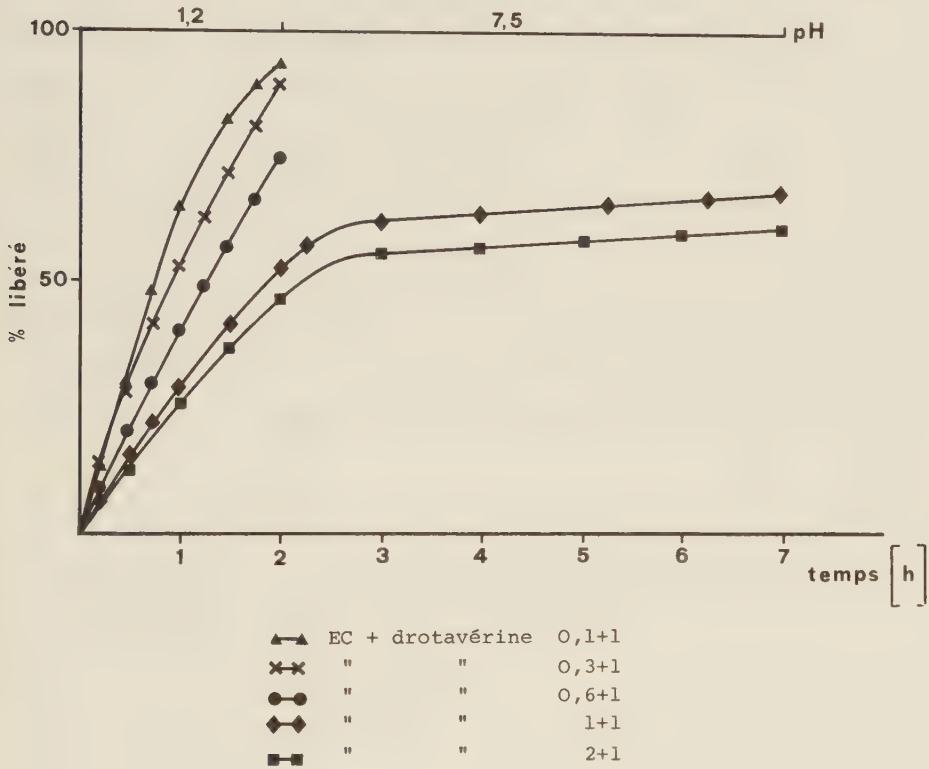
Tableau 3

Influence de la quantité d'éthylcellulose dans les comprimés sur la vitesse de libération de la drotavérine

EC + drotavérine	0,1+1	0,3+1	0,6+1	1+1	2+1
Surface des comprimés [mm^2]	214,0	228,7	250,1	268,6	330,5
% libéré après 2 h dans le suc gastrique	94,9	90,1	77,2	54,3	50,9
% libéré après 5 h dans le suc intestinal	—	—	—	12,2	11,7

Figure 4

Influence de la quantité d'éthylcellulose dans les comprimés sur la vitesse de libération de la drotavérine



Nous avons constaté (tabl. 3, fig. 4) qu'aux faibles et moyennes concentrations d'éthylcellulose, le comprimé ne conserve pas sa forme initiale et a tendance à se désagréger. L'éthylcellulose présente en trop petite quantité est incapable de lier entre elles les particules de la drotavérine. La désagrégation, partielle ou totale, entraîne une vitesse de libération trop rapide : en effet,

après avoir séjourné 2 heures dans le suc gastrique, la grande majorité de la drotavérine est déjà libérée.

Ce n'est que lorsque la concentration en dérivé cellulosique atteint celle en principe actif, que le comprimé garde sa forme pendant les 7 heures que dure le contrôle de la libération. Cette dernière diminue dans le suc gastrique avec l'augmentation de la concentration en éthylcellulose, alors qu'elle est toujours très faible dans le suc intestinal, dépassant à peine 12% en 5 heures. L'éthylcellulose, ici, joue bien son rôle de matrice plastique, mais à cause de la faible solubilité du principe actif en milieu intestinal, celui-ci est libéré beaucoup trop lentement de la matrice cellulosique.

L'addition de substances insolubles en milieu gastrique mais entérosolubles, telles que la saccharine, l'acétophtalate de cellulose ou la gomme-laque réduit la vitesse de libération en pH acide ainsi qu'en pH alcalin (tabl. 4).

Tableau 4

*Influence d'adjuvants entérosolubles sur la libération
de la drotavérine (EC + drotavérine : 1+1)*

Adjuvants	Saccharine 10%	Acétophtalate de cellulose 10%	Gomme-laque 10%	Sans adjuvant
% libéré après 2 h dans le suc gastrique	23,3	41,0	23,8	54,3
% libéré après 5 h dans le suc intestinal	2,2	4,8	4,2	12,2

Enfin, un essai complémentaire avec de la drotavérine réduite en particules très fines n'a entraîné aucun changement du profil de libération.

II.3.5 Influence du mode de fabrication

Un autre processus de fabrication est également essayé, soit la granulation par voie humide.

La drotavérine et l'éthylcellulose sont mélangées puis granulées au moyen du chlorure de méthylène. Le granulé est séché à l'étuve à 50° C puis comprimé dans les conditions précédemment décrites.

Tableau 5

*Influence du mode de fabrication sur la libération
de la drotavérine*

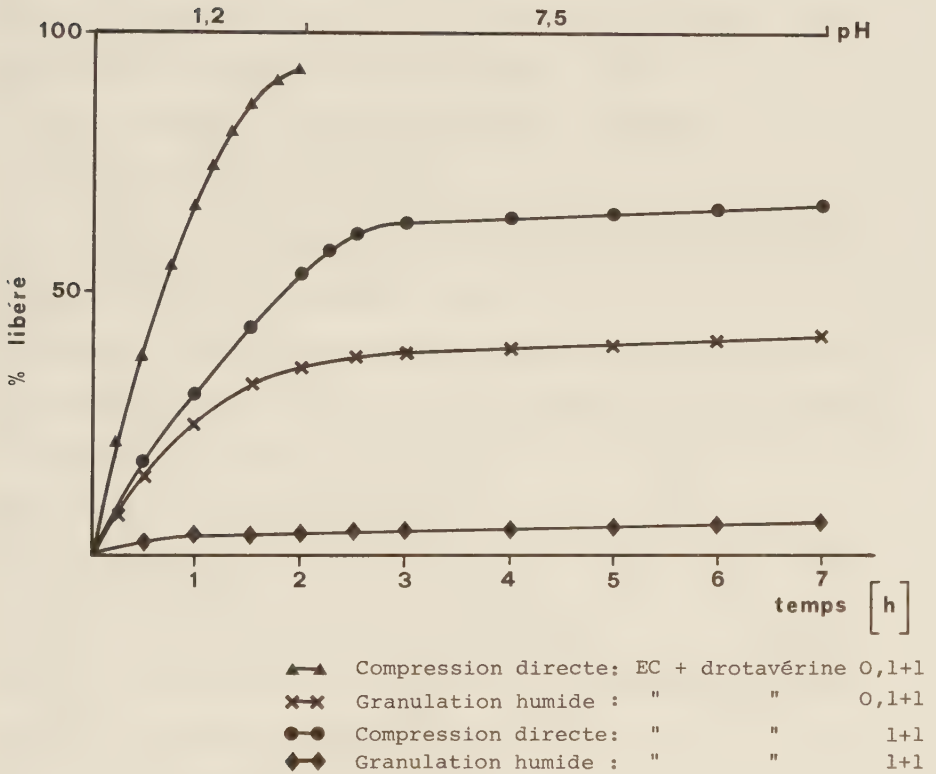
EC + drotavérine	1+1	1+1	0,1+1	0,1+1
Mode de fabrication	Compression directe	Granulation humide	Compression directe	Granulation humide
% libéré après 2 h dans le suc gastrique	54,3	5,5	94,9 [*]	37,8
% libéré après 5 h dans le suc intestinal	12,2	1,8	—	5,2

* Comprimés désagregés.

Ce dernier procédé freine la libération du principe actif aussi bien en milieu gastrique qu'en milieu intestinal simulés (tabl. 5, fig. 5). Ceci est dû probablement au fait que l'éthylcellulose mouillée avec le solvant organique forme une masse plastique dans laquelle la drotavérine est bien plus intimement liée à l'éthylcellulose qu'avec le premier procédé. De ce fait, les canalicules sont plus étroits et le lessivage du principe actif par les sucs biologiques artificiels ne se fait que très lentement. Il est évident que la libération en milieu intestinal est également trop lente.

Figure 5

*Influence du mode de fabrication sur la libération
de la drotavérine*



II.3.6 Conclusions

Les résultats obtenus présentent tous un trait commun : en milieu alcalin, la libération de la drotavérine est extrêmement lente et les variations de concentration en éthylcellulose n'y jouent qu'un rôle relativement faible. En milieu gastrique, par contre, la libération du principe actif est fortement dépendante de la concentration en substance inerte; elle est d'autant plus rapide que la quantité d'éthylcellulose est petite.

Dans le cas où la solubilité de la drotavérine en pH alcalin serait sensiblement égale à celle en milieu gastrique, la libération de cette dernière dépendrait alors essentiellement de la concentration en éthylcellulose.

Il serait par conséquent judicieux d'augmenter la solubilité ou du moins la vitesse de dissolution de cette substance par diverses techniques, dont la meilleure entraînerait ce changement uniquement en pH basique. Il est rare, cependant, que de tels procédés soient aussi sélectifs.

Le recours à une matrice inerte permet donc de freiner et de moduler la libération de la drotavérine en milieu gastrique. Cependant, le problème n'est que partiellement résolu puisque la fraction libérée en milieu intestinal en 5 heures, est trop faible en raison de la basse solubilité de la substance active en pH proche de la neutralité.

III. Les coprécipités.

Coprécipité de drotavérine et incorporation dans la matrice cellulosique

III.1 Définition et historique

Les *coprécipités* sont des systèmes de dispersions solides dans lesquels des substances en général peu solubles sont réparties en particules très fines, à l'état solide, dans la masse d'un support hydrosoluble. Grâce à cette caractéristique, les *coprécipités* favorisent la dissolution de principes actifs faiblement hydrosolubles. Il se composent d'une ou de plusieurs substances actives très peu solubles et de macromolécules (polymères) ou d'autres substances jouant le rôle de véhicule hydrosoluble.

Ils sont obtenus par dissolution du principe actif et des macromolécules dans une phase organique puis par évaporation du solvant.

L'emploi des *coprécipités* en technologie pharmaceutique apparut en 1963 lorsque Stone⁷¹ améliora la solubilité et l'inhibition antimicrobienne d'antibiotiques en les *coprécipitant* avec différents copolymères. En 1965, Tachibana et Nakamura⁷² les utilisèrent pour la préparation de dispersions aqueuses colloïdales du β -carotène dans la PVP.

Puis à partir de cette époque, de nombreux travaux (cf. III.4) vinrent confirmer les résultats obtenus avec les coprécipités qui permettaient l'accélération des vitesses de dissolution de principes actifs faiblement solubles.

III.2 Méthode de fabrication

III.2.1 Fabrication proprement dite

La technique de coprécipitation est connue depuis longtemps pour préparer des solutions solides ou cristaux mixtes. Le véhicule inerte et hydrosoluble est mis en solution dans un solvant organique, en chauffant légèrement si nécessaire, puis le principe actif y est ajouté. Après complète dissolution, le solvant est soigneusement chassé par évaporation sous vide. Le produit obtenu est séché jusqu'à poids constant. Il est ensuite broyé et tamisé ou encore comprimé selon l'emploi auquel il est destiné.

Notons que le terme de coprécipité, qui désigne le produit obtenu après évaporation, n'est peut-être pas très heureux, puisque le corps solide ne prend pas naissance dans la phase liquide mais seulement après évaporation du solvant. Cependant, cette désignation est universellement adoptée.

III.2.2 Solvants

Les solvants les plus couramment employés sont avant tout des solvants à point d'évaporation relativement bas, pour éviter toute altération du coprécipité par une température d'évaporation trop élevée et pour empêcher qu'une certaine quantité de solvant, même très faible, reste piégée dans le coprécipité. Ce sont le chloroforme⁷²⁻⁷⁵, l'alcool absolu⁷⁶⁻⁷⁸ ou des mélanges de chloroforme et d'alcool⁷⁹. Les solvants tels que le méthanol, l'isopropanol, l'alcool benzylique, la pyridine conviennent également dans certains cas⁷¹. Il faut toutefois préciser que le choix d'un solvant non aqueux dépend principalement des solubilités respectives du principe actif et du véhicule hydrophile dans ce solvant.

III.2.3 Véhicules

L'inocuité du véhicule hydrosoluble doit dicter avant tout le choix de la molécule envisagée. Les polymères hydrosolubles et de haut poids moléculaire sont particulièrement utilisés, en raison de leur très faible toxicité et de leur non-absorption par le tractus gastro-intestinal. Un autre avantage est leur solubilité dans un large éventail de solvants organiques. La PVP a fait l'objet de plusieurs études de coprécipitation avec de nombreuses substances,

telles que la griséofulvine⁷⁵, la réserpine^{73,74}, le sulfathiazole⁷⁶, la digitoxine⁸⁰, l'acronycine⁷⁷, etc. De même, les PEG ont été coprécipités avec la griséofulvine⁷⁸, l'acide acétylsalicylique⁸¹. Dernièrement, le poloxamer 188, association d'oxyde d'éthylène et de propylène entrant dans la composition de certains laxatifs, a été coprécipité avec la digitoxine⁸².

Des molécules hydrosolubles, de taille inférieure aux macromolécules, peuvent également former des coprécipités avec des principes actifs peu solubles en milieu aqueux. C'est le cas notamment des acides biliaires (acides cholique, déoxycholique, lithocholique, cholanique) avec la réserpine^{83,84}, l'urée^{85,86}, l'acide citrique, le pentaérythrol, le tétra-acétate de pentaérythrol⁷⁸ et l'acide succinique⁸⁷, substances employées dans la préparation des mélanges eutectiques (dispersions solides).

III.3 Mécanismes d'action des excipients sur la vitesse de dissolution

Plusieurs phénomènes peuvent intervenir lors de la formation d'un coprécipité. Il faut distinguer, en adoptant la nomenclature de *Chiou* et *Riegelman*⁸⁸ :

- 1) Les solutions solides.
- 2) Les solutions de verre.

- 3) La précipitation amorphe d'un principe actif dans un véhicule inerte.
- 4) La formation d'un complexe entre le principe actif et le véhicule.
- 5) Toutes les combinaisons entre les groupes 1 à 4.

D'autre part, les mécanismes suivants sont susceptibles d'expliquer l'augmentation des vitesses de dissolution des principes actifs faiblement hydrosolubles :

- 1) Effet solubilisant du véhicule dans le micro-environnement, c'est-à-dire dans la couche de diffusion qui entoure la particule solide dans les tous premiers stades de la dissolution⁷⁴.
- 2) Réduction de la taille des particules du principe actif, pouvant atteindre, à la limite, l'état moléculaire, d'où augmentation de la surface de dissolution.
- 3) Absence d'agrégation et d'agglomération entre les fines particules du principe actif hydrophobe.
- 4) Augmentation de la mouillabilité et de la dispersion du principe actif dans le véhicule inerte, chaque cristallite du principe actif étant étroitement entouré par le véhicule hydrosoluble, lui-même rapidement dissous et favorisant le contact entre le solvant et les particules de la substance active^{79,88}.

III.3.1 Solutions solides

Une *solution solide* est composée d'un soluté dissous dans un solvant solide. Les solutions solides sont souvent appelées cristaux mixtes, les deux composants cristallisant ensemble dans un système homogène monophasique⁹⁰. Pour Goldberg et coll.⁹¹, c'est la réduction de la substance dispersée à sa taille moléculaire, qui permet sa rapide dissolution.

Il existe deux classifications, selon que l'on considère l'importance de la solubilité existant entre les deux composants ou la structure cristalline de la solution solide. Dans le premier cas, on distingue les solutions solides continues et discontinues.

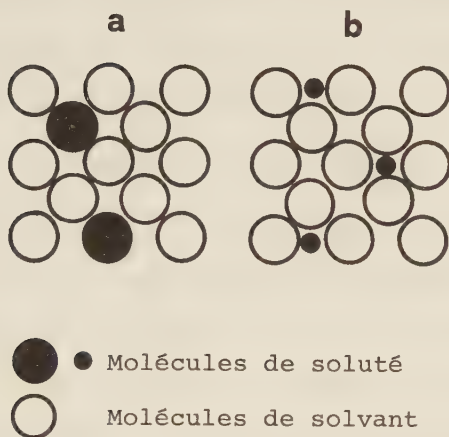
Les *solutions solides continues* sont caractérisées par la solubilité existant en toutes proportions entre le soluté et le solvant à l'état solide.

Les *solutions solides discontinues* ne présentent qu'une solubilité limitée du soluté dans le solvant solide.

Dans le second cas, on parle de *solutions solides de substitution* (fig. 6a) où les molécules du soluté prennent la place de celles du solvant dans le réseau cristallin de ce dernier et de *solutions solides d'insertion* (fig. 6b), où la molécule du soluté occupe l'espace interstitiel du réseau du solvant solide⁸⁸.

Figure 6

(d'après Chiou et Riegelman⁸⁸)



Tandis que dans les solutions solides de substitution, il peut se former aussi bien des solutions continues que discontinues, dans les solutions solides d'insertion, seule une solution solide discontinue apparaît.

Les solutions solides se forment le plus fréquemment lors de la préparation des mélanges eutectiques. Elles peuvent également apparaître lors de la préparation des coprécipités, quand la température d'évaporation nécessaire à l'élimination du solvant est égale ou supérieure à celle du point de fusion du véhicule, de façon à ce que le principe actif puisse s'y dissoudre.

Les coprécipités composés de PEG⁷⁸ forment facilement des solutions solides, grâce à la conformation chimique de ce polymère. Possédant deux hélices parallèles dans son unité structurale, il est apte à former des solutions solides d'insertion, des quantités importantes de substance pouvant être facilement piégées dans l'espace interstitiel hélicoïdal. En plus des grandes dimensions de sa molécule, favorisant la formation de solutions solides d'insertion, thermodynamiquement stables, des facteurs tels que la surfusion, une grande viscosité ou des interactions physico-chimiques entre les principes actifs et le polymère peuvent encore contribuer à la formation de solutions solides métastables, à la condition que le produit fondu principe actif-PEG soit rapidement solidifié, pour que le premier soit très finement dispersé dans le second. Le PEG pourrait aussi jouer le rôle de colloïde protecteur en retardant la précipitation et l'agglomération des fins cristallites avant la solidification⁸⁸.

III.3.2 Solutions de verre

C'est Chiou et Riegelman⁷⁸ qui ont introduit le concept de *solutions de verre* en technologie pharmaceutique.

Une solution de verre ou une solution vitreuse est un système vitreux homogène, dans lequel un soluté est dissous dans un solvant vitreux. L'état vitreux est

habituellement obtenu par refroidissement rapide de la masse fondue.

Si un principe actif peu soluble forme une solution de verre avec un véhicule hydrosoluble à propriétés vitreuses, il se dissout très vite et est libéré rapidement en milieu aqueux, le véhicule se dissolvant lui-même facilement au contact de l'eau. De plus, comparée à une solution solide, quand il y aura sursaturation du soluté, la taille des particules de cristallisation du soluté sera beaucoup plus petite dans une solution de verre, étant donné la difficulté de croissance du cristal dans un milieu visqueux (caractéristique des solutions de verre).

Après évaporation des solvants organiques, dans lesquels elle a été mise en solution avec les substances actives, la PVP peut devenir vitreuse. Il est probable que la viscosité qui augmente avec l'évaporation du solvant tend à inhiber la précipitation dans ce système. Cette inhibition peut encore être facilitée par la complexation possible entre le principe actif et le polymère, d'où la formation d'une solution vitreuse, transparente et cassante. Les propriétés amorphes et vitreuses de la PVP ont été mises en évidence par leur spectre de diffraction aux rayons X⁷⁶. De même, la dispersion à l'état moléculaire dans la PVP (solution de verre) a été révélée par UV, pour le β -carotène⁷² et par diffraction aux rayons X pour le sulfathiazole⁷⁶.

La PVP est probablement le véhicule le plus utilisé pour la formation des coprécipités, d'une part à cause de son très haut point de fusion qui empêche, pour la préparation de dispersions solides, l'emploi de toute autre méthode et d'autre part grâce à sa bonne solubilité dans une large gamme de solvants organiques. Cet avantage est particulièrement intéressant car il permet de la combiner à de nombreuses substances médicamenteuses de solubilité limitée.

III.3.3 Précipitation amorphe

La précipitation d'une forme amorphe du principe actif dans le véhicule est un phénomène qui peut se produire lors de la fabrication des coprécipités. La forme amorphe étant la forme de plus haute énergie d'une substance, sa vitesse de dissolution sera fortement augmentée^{80,90}.

III.3.4 Formation de complexes

La formation de complexes fut la toute première hypothèse formulée pour expliquer l'augmentation de la vitesse de dissolution constatée avec les coprécipités.

III.3.5 Combinaisons de plusieurs mécanismes

Très souvent, un seul des mécanismes décrits précédemment ne suffit pas à expliquer les phénomènes observés lors de la dissolution des coprécipités. Il faut alors recourir à une combinaison entre plusieurs solutions.

Ainsi la griséofulvine dispersée à de hautes concentrations dans le PEG peut exister sous forme de molécules individuelles et de particules micro-cristallines. De même, le sulfathiazole dispersé en quantité élevée dans la PVP peut se présenter à la fois sous forme de sulfathiazole libre et complexé avec la macromolécule, de sulfathiazole amorphe ou de polymorphes et probablement encore sous l'apparence d'un complexe amorphe sulfathiazole-PVP⁸⁸.

III.4 Applications des coprécipités, revue de la littérature.

Les coprécipités font l'objet de nombreuses études surtout *in vitro* mais parfois avec des corrélations *in vivo*. Le but recherché est l'amélioration de la vitesse de dissolution des substances médicamenteuses peu solubles dans les milieux biologiques du tractus gastro-intestinal.

C'est ainsi que Stone⁷¹ coprécipita des antibiotiques peu solubles avec des polymères. Les antibiotiques ainsi traités, la tyrothricine, la tyrosidine et la gramicidine permettent d'obtenir en milieu aqueux des solutions

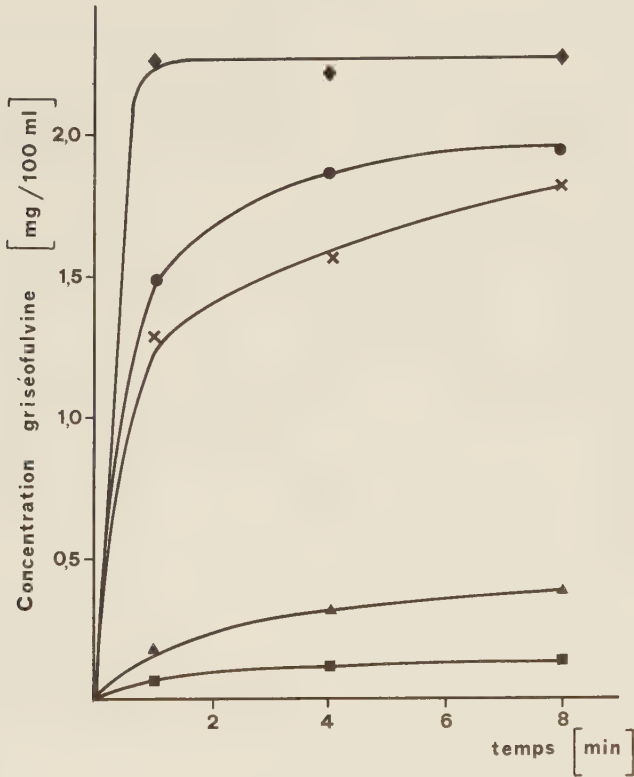
limpides et stables contenant 20% ou plus d'antibiotiques. De plus, ces coprécipités font preuve d'une inhibition antimicrobienne plus grande que celle observée avec chaque antibiotique respectif.

*Stoll et coll.*⁸⁹ démontrèrent que l'amélioration du processus de dissolution, et par suite du processus d'absorption, était l'un des principaux facteurs responsables de l'augmentation de l'activité pharmacologique de la réserpine lors de l'administration de coprécipités de réserpine-acide.

*Mayersohn et Gibaldi*⁷⁵ confirmèrent par cette technique les bons résultats observés avec les coprécipités de griséofulvine-PVP (fig. 7).

Figure 7

Vitesse de dissolution de la griséofulvine micronisée ▲ ,
du chloroformate de griséofulvine ■ , du coprécipité de
griséofulvine + PVP 1+5 ✕, 1+10 ● , 1+20 ◆
(d'après Mayersohn et coll.⁷⁵)



Quant à Bates⁷⁴, il se sert de cette méthode pour comparer la réserpine seule aux coprécipités de PVP et au mélange physique de même composition que le coprécipité (fig. 8).

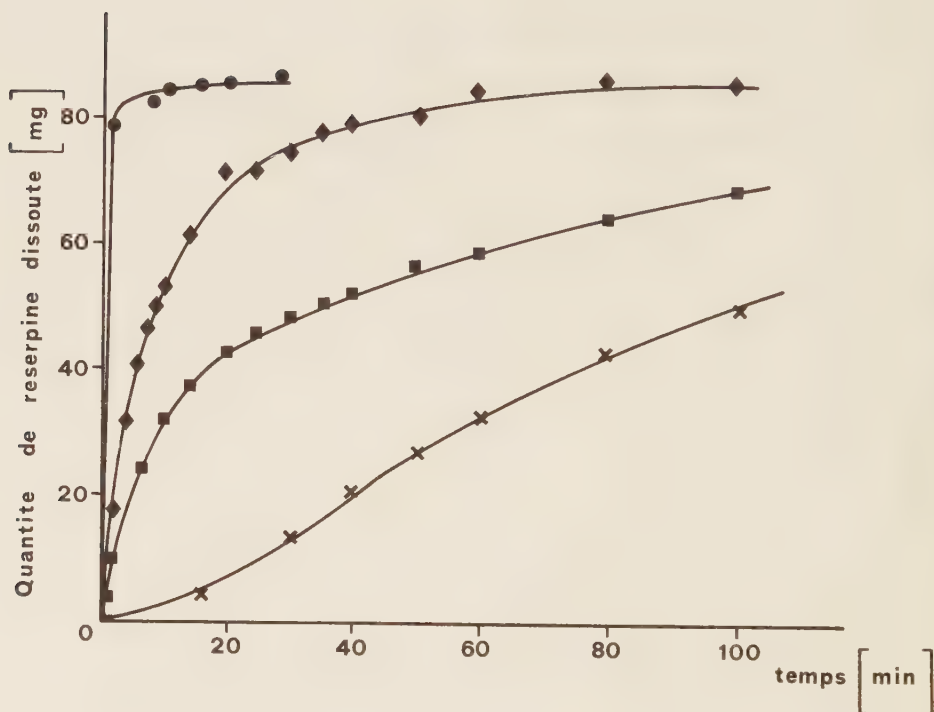
Figure 8

Vitesse de dissolution de la réserpine pure et
des coprécipités de réserpine + PVP :

réserpine pure X, mélange physique ■,

coprécipité 1+3 ◆, coprécipité 1+6 ●

(d'après Bates⁷⁴)



Bates constata, comme le firent Mayersohn et Gibaldi⁷⁵, que plus la concentration en polymère augmentait dans le coprécipité, plus la vitesse de dissolution était rapide. Il explique ces résultats par la formation d'un complexe réserpine-PVP dans le micro-environnement (couche

de diffusion) entourant immédiatement les particules solides. De même, il invoque un changement dans l'état physique de la réserpine dû à la réduction de la taille des particules au moment de la coprécipitation.

*Stupak et Bates*⁸⁰ établirent de bonnes corrélations entre les résultats *in vitro* et *in vivo* obtenus avec ces coprécipités. Ils conclurent que la vitesse de dissolution était un facteur contrôlant la quantité de réserpine absorbée et par conséquent excrétée et que la coprécipitation de la réserpine avec la PVP pouvait augmenter significativement les caractéristiques d'absorption de cette substance hydrophobe.

*Simonelli et coll.*⁷⁶ étudièrent les mécanismes de dissolution à partir d'une surface plane constante d'un comprimé de coprécipité sulfathiazole-PVP. L'augmentation de la vitesse de dissolution du sulfathiazole est fonction du poids moléculaire de la PVP, de la concentration en sulfamide dans le coprécipité et, dans quelques cas, du milieu de dissolution et du temps.

*Chiou et Riegelman*⁷⁸ indiquèrent que les systèmes de griséofulvine-PEG obtenus par coprécipitation étaient thermodynamiquement stables et que la coprécipitation de l'acide citrique avec le PEG donnait naissance à des solutions de verre.

En 1973, *Asker et Withworth*⁸¹ étudièrent le comportement des coprécipités d'acide acétylsalicylique-PEG en milieu aqueux. Ils constatèrent que l'augmentation de la concentration en PEG 6000 entraînait une diminution de la vitesse de libération, attribuant ce fait à l'action viscosifiante du polymère. Ils observèrent peu de différence entre les vitesses de dissolution des mélanges physiques et celles des coprécipités.

En 1976, *El-Gindy et coll.*⁹⁶ se servirent de la coprécipitation pour améliorer la solubilité de la papavérine et de la codéïne dans des préparations à libération prolongée.

*Stevens et Padfield*⁹⁷ démontrèrent par des examens de diffraction aux rayons X que les coprécipités d'acide salicylsalicylique-PVP présentaient une structure totalement amorphe alors que l'acide salicylsalicylique lui-même est cristallin.

Quelques études *in vivo* ont permis de déduire des corrélations existant avec les tests *in vitro*. Ainsi, les résultats obtenus *in vivo* avec les coprécipités de digitoxine-PVP⁸⁰ indiquent que la vitesse d'absorption et la quantité absorbée, sous cette forme, sont bien supérieures à celles provoquées par des doses équivalentes de digitoxine seule ou de son mélange physique avec la PVP. La toxicité en est également augmentée, constatation faite par *Reddy et coll.*⁸² avec des coprécipités de digitoxine-poloxamer 188.

Le même phénomène n'apparaît cependant pas avec des copré-
cipités de digoxine-poloxamer 188.

Les coprécipités d'acronycine⁷⁷ se sont révélés
plus actifs sur les cellules mitotiques du rat que l'acrony-
cine seule.

L'absorption de réserpine coprécipitée avec la
PVP⁷³ est trois fois plus élevée, chez le rat, que celle
obtenue avec la substance seule ou avec son mélange physique,
comme le laissait prévoir l'expérimentation *in vitro*.

Des corrélations semblables sont observées avec
les coprécipités de réserpine et d'acide biliaire^{83, 84};
l'activité blépharoptotique de ce principe actif s'établit
plus rapidement et son intensité est plus importante que
celle de la réserpine seule.

Les coprécipités de griséofulvine-PVP⁹⁸ ont été
étudiés chez l'homme en comparaison avec les mélanges
eutectiques des mêmes composants. Alors que les résultats
des vitesses de dissolution⁷⁸ étaient en faveur du mélange
eutectique, les tests *in vivo* ont indiqué que ces prépara-
tions sont toutes deux rapidement et complètement absorbées;
de plus, leur absorption est 50% supérieure à celle de la
griséofulvine micronisée.

III.5 Coprécipités et forme à libération prolongée

La revue qui précède démontre l'intérêt des coprécipités en biopharmacie et en technologie. Grâce à ce procédé, de nombreuses substances faiblement solubles peuvent être utilisées pour diverses applications pharmaceutiques. Dans le cadre des formes médicamenteuses à libération prolongée, la coprécipitation peut accélérer la mise à disposition de la dose initiale mais surtout accroître la vitesse de dissolution de substances peu solubles en milieu intestinal. C'est en effet à ce niveau du tractus digestif que le médicament séjournera le plus longtemps et où il devra libérer encore 60 à 80%, par exemple, de la dose totale qu'il renferme. Il est donc évident que la vitesse de dissolution doit être suffisamment élevée pour assurer une biodisponibilité satisfaisante.

Nous utilisons pour la préparation des coprécipités la PVP. Non seulement la littérature cite de nombreux cas de coprécipités formés avec ce polymère mais encore, grâce à son innocuité et à sa parfaite tolérance, il est autorisé pour la voie orale. De plus, à la suite d'essais préliminaires comparatifs avec des coprécipités de drotavérine + PVP et drotavérine + PEG, nous avons opté pour le premier dérivé, qui présentait des résultats plus satisfaisants au niveau de la vitesse de libération.

III.6 Partie expérimentale

III.6.1 Fabrication du coprécipité de drotavérine + PVP

La drotavérine est dissoute dans un minimum de chloroforme, solvant choisi pour la coprécipitation. La PVP en quantité adéquate est à son tour dissoute dans un minimum du même solvant (150 g de coprécipité nécessitent environ 350 ml de chloroforme). Les deux solutions sont mélangées et le chloroforme est évaporé sous vide, d'abord avec un Rotavapor jusqu'à récupération des 2/3 environ du solvant, puis dans une étuve sous vide, à 700 mm Hg et à une température de 40⁰ C, jusqu'à poids constant. La masse séchée ainsi obtenue est broyée et granulée avec un tamis de 500 µm. Après granulation, le coprécipité est séché à nouveau à l'étuve pour éliminer la totalité du chloroforme.

III.6.2 Influence de la concentration en PVP sur la vitesse de dissolution

Pour étudier l'influence de la concentration en PVP sur la solubilité et la vitesse de dissolution de la drotavérine, des coprécipités de drotavérine + PVP sont préparés dans les proportions suivantes :

1 + 0,5 ; 1 + 1 ; 1 + 2 ; 1 + 3

Tableau 6

*Solubilité [g/l] de la drotavérine et de la drotavérine
coprécipitée avec la PVP*

pH	1,2	7,5
Drotavérine	12,5	0,25
Drotavérine + PVP		
1 + 0,5	13,2	0,24
1 + 1	25,6	0,26
1 + 2	22,5	0,25
1 + 3	21,8	0,20

L'étude de la solubilité de ces coprécipités (tabl. 6) démontre que, en milieu gastrique, l'adjonction de PVP augmente d'environ deux fois la solubilité de la drotavérine, à partir des proportions 1+1. En milieu intestinal par contre, la solubilité de la drotavérine coprécipitée est pratiquement identique à celle de la drotavérine seule, quelle que soit la concentration en PVP.

Tableau 7

*Dissolution de la drotavérine coprécipitée avec
différentes proportions de PVP*

Drotavérine + PVP *	% dissous en 2'	% dissous en 2'	% dissous en 10'
	S.G.	S.I.	S.I.
1 + 0,5	97,6	74,8	95,0
1 + 1	98,1	92,7	97,8
1 + 2	98,9	93,4	97,9
1 + 3	99,6	96,4	100,2
Drotavérine	93,7	32,4	61,4

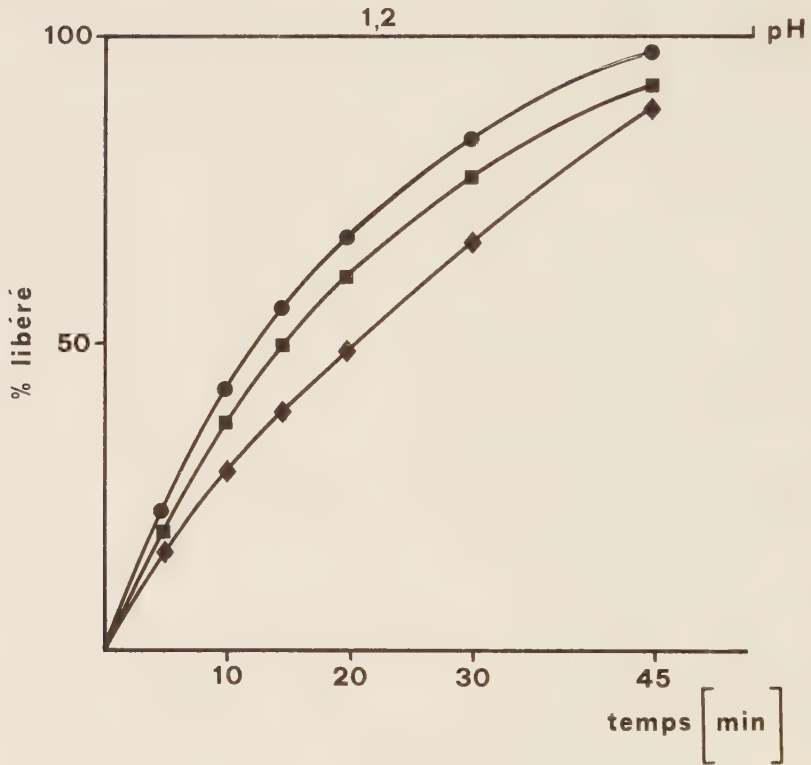
* Chaque coprécipité contient respectivement la même quantité de drotavérine.

Le tableau 7 représente les dissolutions des différents coprécipités dans les sucs gastrique et intestinal.

On prévoit que le pourcent en principe actif dissous s'accroît avec une augmentation de la quantité en PVP. Les résultats sont confirmés par ceux obtenus lors de la compression des granulés de coprécipités (pression : 3200 kg/cm^2) qui indiquent clairement que plus la quantité en PVP augmente, plus le principe actif est libéré rapidement (fig. 9 et 10).

Figure 9

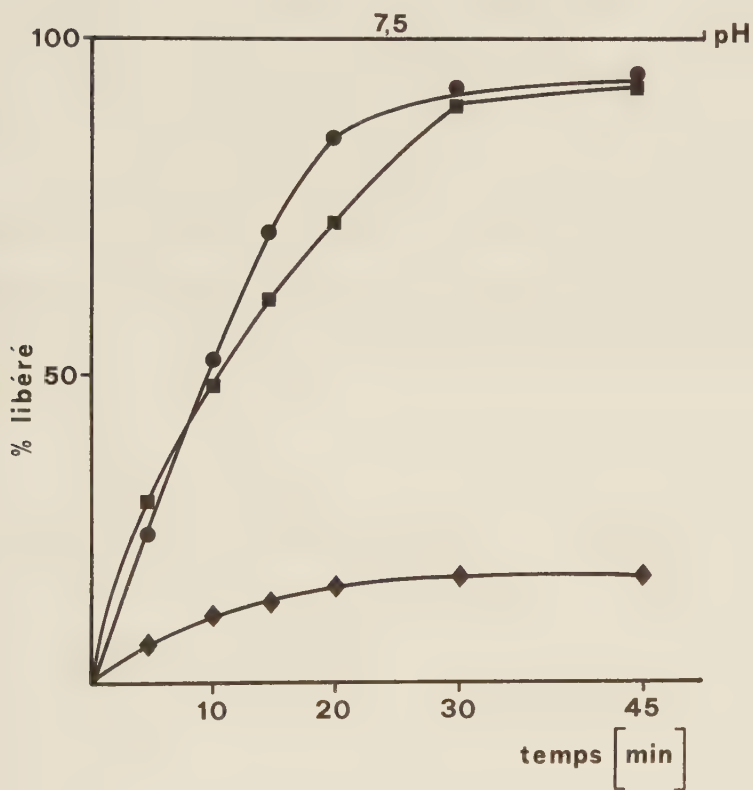
Influence de la quantité de PVP sur la vitesse de libération de comprimés de drotavérine coprécipitée



◆◆ Drotavérine + PVP 1+1
■ ■ " " 1+2
● ● " " 1+3

Figure 10

Influence de la quantité de PVP sur la vitesse de libération de comprimés de drotavérine coprécipitée



- ◆◆ Drotavérine + PVP 1+1
- " " 1+2
- " " 1+3

A la suite des résultats exprimés dans les tableaux 6 et 7 et les figures 9 et 10, le mélange drotavérine + PVP 1+2 a été retenu car il permet, après adjonction du support inerte, d'obtenir des comprimés de dimensions adéquates et d'assurer des conditions satisfaisantes de libération.

III.6.3 Etude physico-chimique du coprécipité

Les études qui vont suivre concernent uniquement le coprécipité de drotavérine + PVP 1+2 pour la raison que nous venons d'évoquer.

III.6.3.1 Solubilité et vitesses de dissolution

La solubilité du coprécipité de drotavérine est plus élevée que celle de la drotavérine seule, aussi bien en pH 1,2 que 4,5. Par contre au pH 7,5, les valeurs sont semblables (tabl. 8).

Tableau 8

*Solubilité [g/l] de la drotavérine et du coprécipité
dans différents milieux de dissolution**

pH	1,2	4,5	7,5
Drotavérine	12,5	22,9	0,3
Coprécipité	22,5	30,3	0,3

* Sucs gastrique et intestinal artificiels
Ph. Helv. VI et mélange des deux.

La vitesse de libération de la drotavérine incorporée dans le même coprécipité est déterminée également dans les 3 milieux de dissolution (tabl. 9) selon la méthode de *Poole* modifiée⁹⁹. En exprimant sur papier semi-logarithmique la quantité non libérée en fonction du temps, on obtient des relations linéaires caractérisées par les pentes déterminées graphiquement et exprimées dans le tableau 9.

Tableau 9

*Constantes de dissolution $[h^{-1}]$ de la drotavérine seule
et de la drotavérine coprécipitée avec le PVP*

pH	1,2	4,5	7,5
Sink conditions (5%)			
Drotavérine	13,46	33,30	0,29
Coprécipité	Dissolution instantanée	Dissolution instantanée	5,66

On voit donc que la vitesse de libération de la drotavérine coprécipitée avec la PVP est 20 fois plus rapide que celle de la drotavérine, au pH 7,5 et en "sink conditions".

III.6.3.2 Analyse granulométrique et vitesse d'écoulement

Afin de déterminer les conditions les plus favorables à la compression, nous avons procédé à une analyse granulométrique du coprécipité et déterminé la vitesse

d'écoulement des particules de différentes grandeurs ainsi que l'angle de repos. Les différents lots sont séparés par tamisages successifs sur une table vibrante (ERWEKA VT 23140).

La détermination de la vitesse d'écoulement représentative du produit en mouvement semble être la plus proche du phénomène existant dans une trémie d'alimentation, et de plus les tests angulaires permettent d'évaluer le comportement des poudres dans les machines.

La vitesse d'écoulement est déterminée à l'aide d'un entonnoir normalisé¹⁰⁰ sur 10,0 g de substance (tabl. 10).

Tableau 10
Granulométrie et vitesse d'écoulement

Taille des particules [μm]	1000-800	800-500	500-315	315-250	< 250
Quantité retenue [%]					
Coprécipité	49,5	16,6	8,6	3,2	22,1
Drotavérine	0	0	0	20,4	79,6
Temps d'écoulement [sec]					
Coprécipité	4,5 -	2,3 ++	2,0 ++	2,3 +	3,0 +
Drotavérine	0	0	0	38,0 -	43,0 -

* - mauvais écoulement
+ écoulement irrégulier ++ bon écoulement régulier.

La mesure de l'angle de repos d'un tas de poudre donne une idée valable de la cohésion donc de la fluidité de cette poudre. Nous utilisons pour nos mesures la technique de *Devise et coll.*¹⁰⁰ (tabl. 11).

Tableau 11

Mesure de l'angle de repos α

Taille des particules [μm]	Coprécipité de drotavérine + PVP 1 + 2				
	1000-800	800-500	500-315	315-250	< 250
h	19	15	16	15 * (26)	16 (29)
r	31,5	30,0	32,0	31,0 (32,0)	31,0 (30,0)
$\text{tg}\alpha = \frac{h}{r}$	0,6031	0,5000	0,5000	0,4839 (0,8125)	0,5161 (0,9666)
α [°]	31,09	26,57	26,57	25,82 (39,09)	27,3 (44,09)

* Les valeurs entre parenthèses correspondent à celles de la drotavérine non coprécipitée.

On peut résumer de la manière suivante les observations de ces auteurs et celles reportées dans d'autres travaux :

Angle de repos	Ecoulement
$< 30^{\circ}$	facile
$30^{\circ}-50^{\circ}$	difficile
$> 50^{\circ}$	impossible

A la suite de l'examen des valeurs citées dans les tableaux 10 et 11, les particules du coprécipité $> 800 \mu\text{m}$ seront réduites en particules de tailles inférieures. Pour la fabrication des comprimés, on utilisera l'ensemble des particules $< 800 \mu\text{m}$ qui présentent des caractéristiques d'écoulement favorables.

III.6.4 Intérêt du coprécipité de drotavérine

Le coprécipité de drotavérine diffère de la drotavérine seule par une vitesse de dissolution plus rapide dans tous les milieux testés et par une solubilité augmentée dans tous les pH à l'exception de celui de 7,5.

Il est étonnant qu'à ce pH, on ne constate aucune amélioration de la solubilité du coprécipité de drotavérine, alors que la vitesse de dissolution, elle, est plus élevée.

Cette caractéristique pourrait s'expliquer par la présence d'une forme de haute énergie de la drotavérine obtenue lors de la coprécipitation. Cette forme serait

responsable de l'augmentation de la vitesse de dissolution. Particulièrement instable en milieu alcalin, elle pourrait se transformer plus ou moins rapidement en une forme moins soluble semblable à la solubilité de la drotavérine.

Cette hypothèse déjà avancée par *Simonelli et coll.*⁹⁵ démontre que si la vitesse de dissolution d'un principe actif dans un solvant augmente toujours si sa solubilité apparente augmente dans ce même solvant, la réciproque n'est pas nécessairement vraie.

Les comprimés de coprécipité de drotavérine peuvent être obtenus par compression directe. La résistance à l'écrasement des comprimés fabriqués avec une pression de 3200 kg/cm^2 , déterminée avec l'appareil de Schleuniger, est de 9 kp.

Les paragraphes qui vont suivre sont consacrés à la formulation proprement dite de la forme solide à libération prolongée. Le coprécipité sera incorporé à des matrices plastiques, après un essai infructueux avec une matrice cireuse, décrit ci-dessous.

III.7 Coprécipité et Précirol

Le Précirol^R (Gattefossé), ester palmitostéarique du glycérol, peut être employé pour retarder la libération. La concentration généralement utilisée dans les comprimés varie de 10 à 40% et dépend de l'effet prolongé que l'on désire obtenir.

Deux modes de fabrication des comprimés ont été adoptés : la granulation humide, et la compression directe.

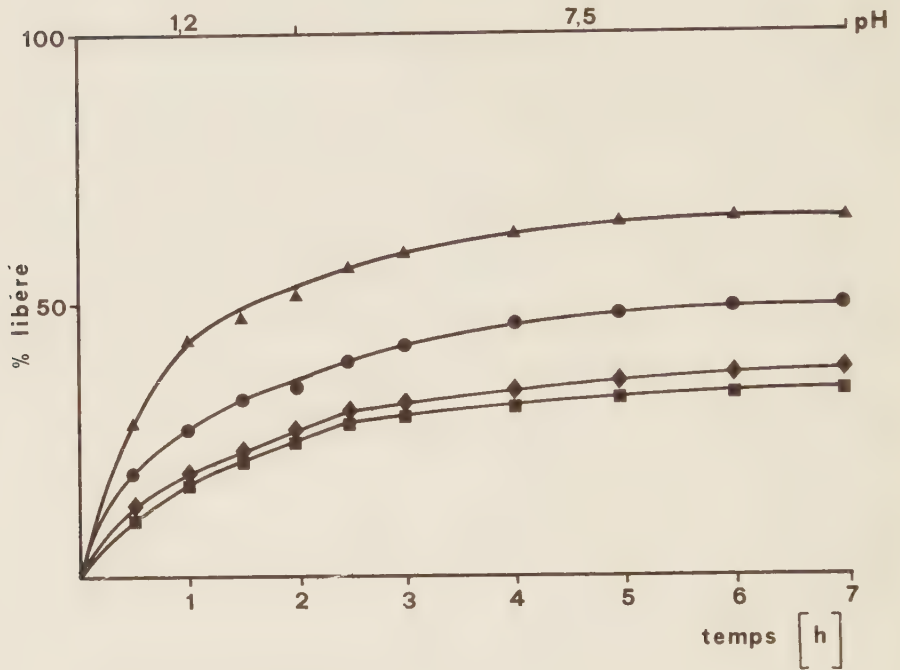
La voie humide consiste à dissoudre dans de l'isopropanol chaud le Précirol (concentration 10 et 20%); le coprécipité y est ensuite ajouté peu à peu jusqu'à obtention d'une pâte que l'on peut granuler ($\emptyset$ tamis = 1410 μ m). Après séchage à 40° C, la compression se fait à 3200 kg/cm² avec un poinçon de 1,3 cm de diamètre.

La compression directe est effectuée dans les mêmes conditions que celles citées ci-dessus, après mélange du coprécipité de drotavérine + PVP et du Précirol.

La libération est plus rapide avec les comprimés fabriqués par compression directe qu'avec ceux obtenus après granulation humide (fig. 11). Ce fait avait été observé également lors des études de comprimés drotavérine + éthyl-cellulose, mais dans le cas du Précirol la différence entre les deux méthodes de préparation est moins importante. Ces résultats ne sont pas satisfaisants puisque après 7 heures, seulement 66% du principe actif dans le cas le plus favorable, ont été libérés. Avec des quantités de Précirol < 10%, les comprimés se désagrègent dans les milieux de dissolution testés.

Figure 11

*Influence de la quantité de Précirol sur la vitesse
de libération de la drotavérine coprécipitée*



Compression directe

▲—▲ Coprécipité + Précirol 20%

●—● " " 10%

Granulation humide

◆—◆ Coprécipité + Précirol 10%

■—■ " " 20%

III.8 Coprécipités de drotavérine et éthylcellulose

III.8.1 Fabrication des comprimés de coprécipité de drotavérine et d'éthylcellulose

Suite aux observations citées au chapitre II.3.5 et III.7, nous abandonnons la granulation humide au profit de la compression directe.

Le coprécipité de drotavérine + PVP préparé selon III.6.1 est intimement mélangé à l'éthylcellulose, avant l'adjonction de 0,75% d'un mélange de stéarate de magnésium et d'acide stéarique. La compression se fait à 3200 kg/cm^2 avec un poinçon de 1,3 cm de diamètre.

III.8.2 Influence de la concentration en éthylcellulose

La figure 12 montre qu'une augmentation de la concentration en éthylcellulose diminue la vitesse de libération du principe actif. Le coprécipité de drotavérine + PVP 1+3 assure pour les mêmes concentrations d'éthylcellulose, une libération en principe actif inférieure à celle du coprécipité de drotavérine + PVP 1+2, justifiant le choix de cette proportion. Les concentrations les plus basses en éthylcellulose donnent une trop forte libération durant les deux premières heures. Nous avons retenu le rapport coprécipité + éthylcellulose 1+0,5.

Figure 12

Influence de la quantité d'éthylcellulose sur la vitesse de libération de la drotavérine coprécipitée

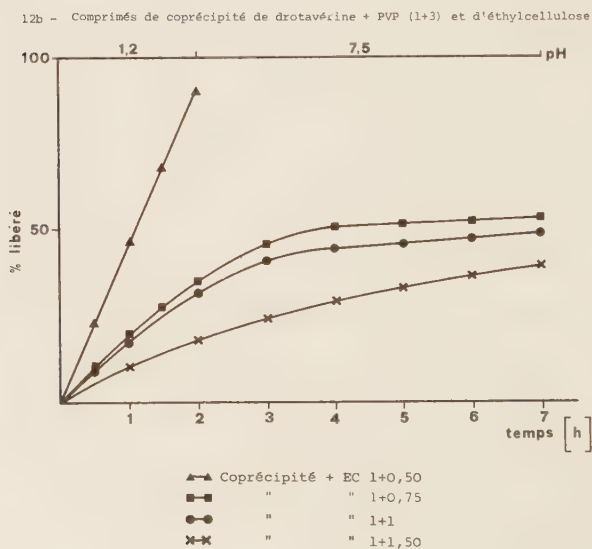
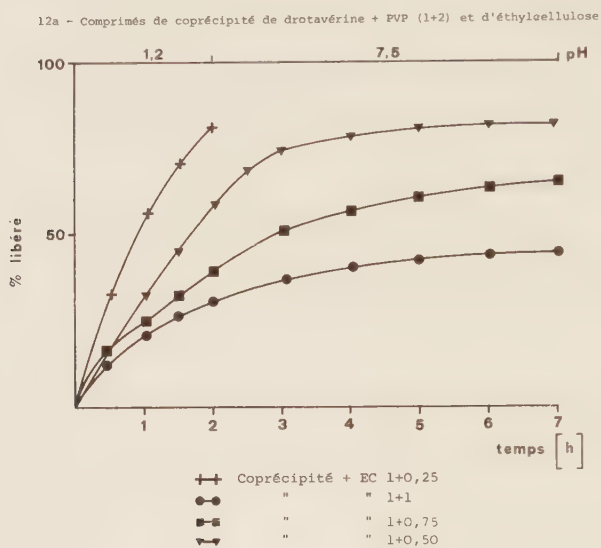
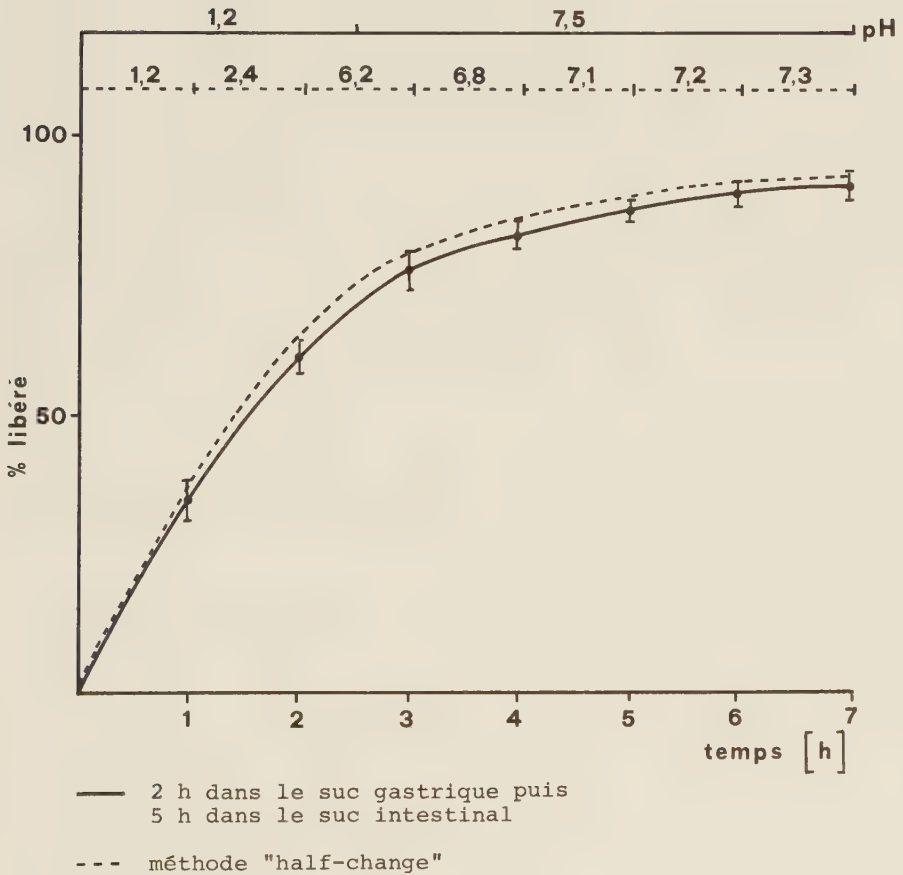


Figure 13

*Libération de la drotavérine à partir de comprimés
représentant les conditions optimales*

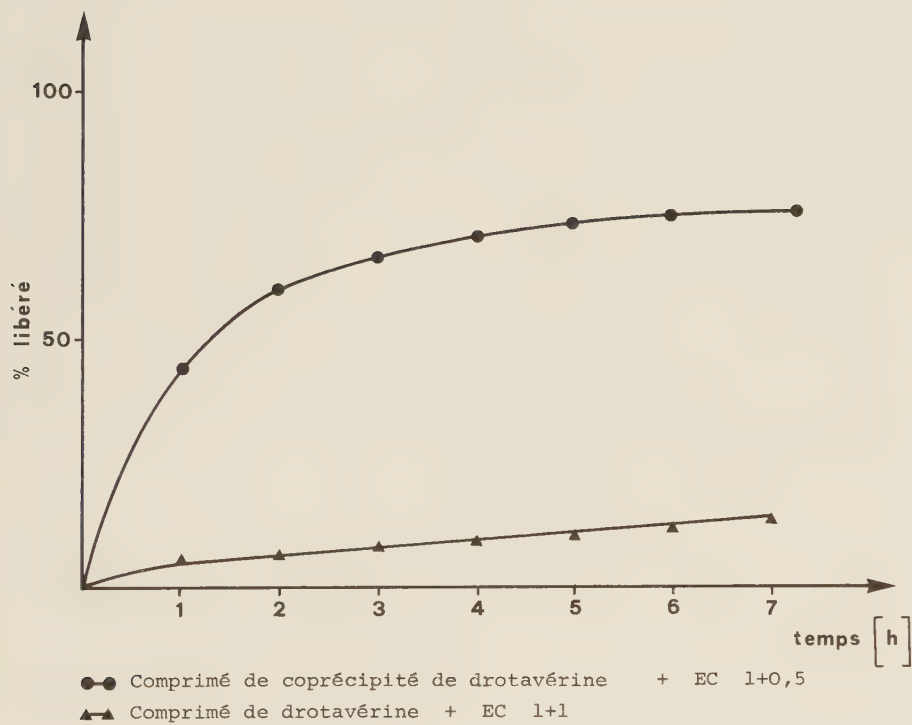


En diminuant la pression (754 kg/cm^2) et en utilisant pour l'éthylcellulose des particules $< 500 \text{ }\mu\text{m}$, on obtient une libération totale de 92% en 7 heures dont un peu plus de la moitié de la dose totale libérée en 2 heures dans le suc gastrique (fig. 13), ce qui correspond à des conditions satisfaisantes non seulement selon les normes généralement citées dans la littérature mais aussi pour la réponse pharmacologique désirée^{125,128}.

La comparaison entre un comprimé de drotavérine + éthylcellulose 1+1 et d'un comprimé de coprécipité + éthylcellulose 1+0,5 fabriqué et testé dans les mêmes conditions, se révèle particulièrement intéressante. En effet, un comprimé de drotavérine + éthylcellulose placé en milieu intestinal ne libère après 7 heures que 12% de son principe actif tandis que le comprimé de coprécipité + éthylcellulose en libère dans le même laps de temps 75% (fig. 14).

Figure 14

Libération en milieu intestinal



III.8.3 *Influence de la taille des particules d'éthylcellulose sur la vitesse de libération du principe actif*

L'éthylcellulose est tamisée et répartie en 3 lots comprenant respectivement les particules entre 1000 - 500 μm , 500 - 250 μm et < 250 μm . Les particules > 1000 μm ont été éliminées, elles ne représentent en effet que le 0,3% de l'ensemble (tabl. 12). Des comprimés de coprécipité + éthylcellulose 1+0,5 sont fabriqués avec les trois fractions d'éthylcellulose, la taille des particules du coprécipité étant constante (< 800 μm) de même que la pression (754 kg/cm^2).

Lorsque la taille des particules d'éthylcellulose diminue, la drotavérine est libérée plus lentement de la matrice par suite d'une diminution de sa porosité (Fig. 15). Cette constatation rejoint celle formulée par Ionesco-Stoian et coll.¹⁰¹ et Rowe¹⁰² qui, avec Elworthy et Ganderton²⁸ proposa un modèle physique poreux pour l'étude de la libération à partir de comprimés de matrice plastique.

Figure 15

*Influence de la taille des particules d'éthylcellulose
sur la libération de la drotavérine coprécipitée*

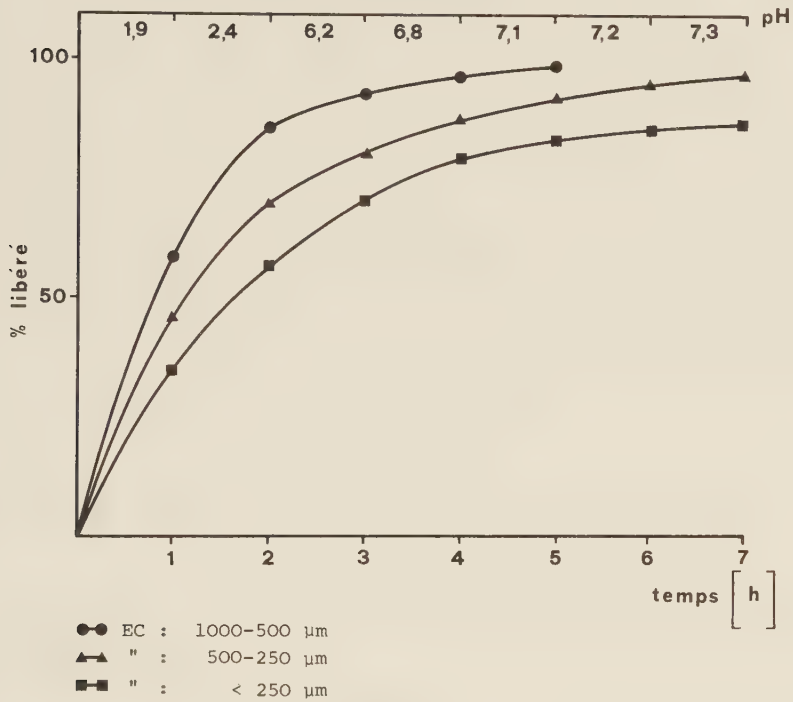


Tableau 12

Répartition granulométrique de l'éthylcellulose

N200 (HERCULES)

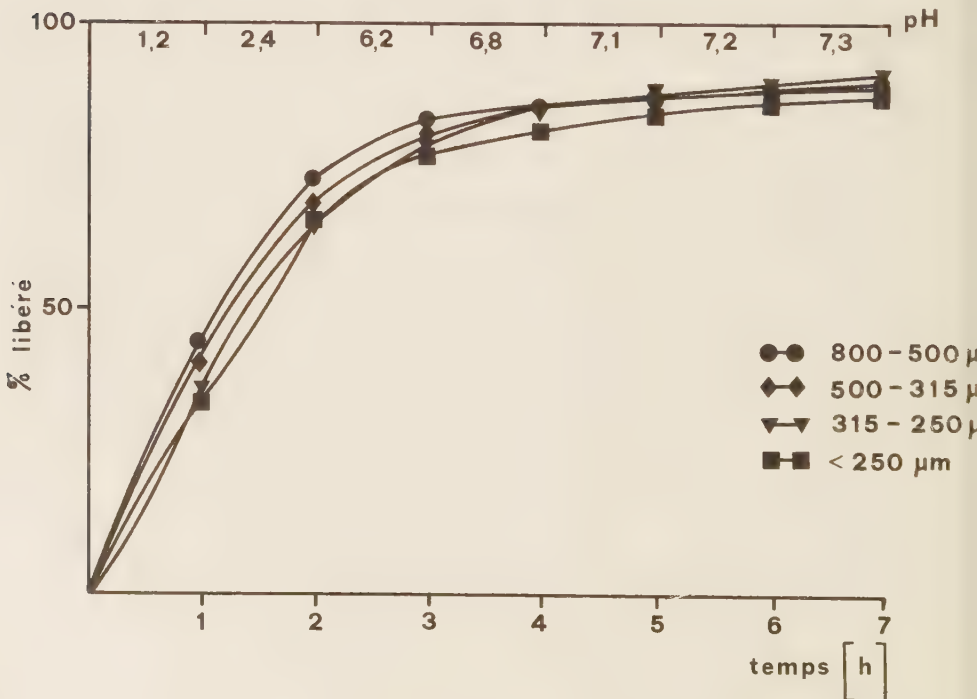
Taille des particules [μm]	> 1000	1000-500	500-250	250-0
Ethylcellulose retenu [%]	0,3	19,9	38,3	41,5

III.8.4 Influence de la taille des particules du
coprécipité sur la vitesse de libération du
principe actif

Des comprimés sont fabriqués avec les différents lots de coprécipités obtenus par tamisage (cf. III.6.3.2), après élimination des particules supérieures à 800 μm , la dimension des particules d'éthylcellulose reste constante ($< 500 \mu\text{m}$).

Figure 16

Influence de la taille des particules de coprécipité
sur la libération de la drotavérine



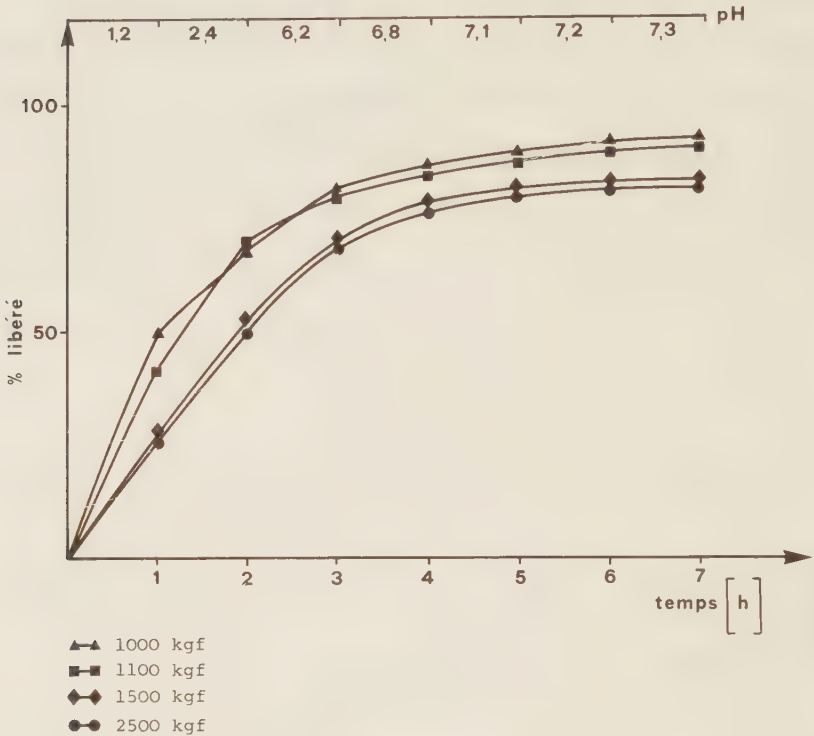
A la force de compression choisie (754 kg/cm^2 Presse SPECAC), la taille des particules n'a qu'une influence minime sur la libération de la drotavérine (fig. 16). Les particules comprises entre 800 et 250 μm ne présentent à partir de la 3^{ème} heure de dissolution, aucune différence significative ($p = 0,05$). Par contre, la quantité libérée par unité de temps est légèrement inférieure pour les particules $< 250 \mu\text{m}$. Cette influence presque négligeable de la taille des particules sur la libération du principe actif est un avantage particulièrement appréciable dans la production industrielle.

III.8.5 Influence de la force de compression sur la vitesse de libération du principe actif

Des comprimés sont fabriqués avec les particules de coprécipité $< 800 \mu\text{m}$ et d'éthylcellulose $< 500 \mu\text{m}$, à différentes forces de compression. Les résultats exprimés à la figure 17 semblent indiquer que lorsque la force de compression augmente, le principe actif est libéré plus lentement des comprimés à action prolongée.

Figure 17

Influence de la force de compression sur la vitesse de libération de la drotavérine



Rowe¹⁰² fit la même constatation lorsqu'il étudia l'impact de la force de compression sur une matrice polymérisée non poreuse.

Les forces de compression de 1000 et 1100 kgf sont celles qui assurent la libération optimum correspondant à environ 92% en 7 heures. Nous utilisons la notion de force de compression (kgf) au lieu de celle de pression (kg/cm^2) pour obtenir des valeurs entières.

La cinétique de libération *in vitro* n'étant pas simple et ne pouvant s'exprimer par les équations de droite de régression usuelle (ex: soit % libéré, soit % retenu en fonction de t, etc.), il s'avère utile de traiter par ordinateur les résultats obtenus afin de mieux saisir l'influence des paramètres étudiés.

III.8.6 Traitement mathématique des résultats

III.8.6.1 Généralités

Pour saisir l'importance des paramètres *grandeur des particules du coprécipité* (x_1) et *force de compression* (x_2), qui entrent en jeu lors de la fabrication de comprimés de coprécipité de drotavérine à libération prolongée, nous avons eu recours à l'ordinateur.

Les estimations sont effectuées au moyen d'une régression multiple dite "Stepwise Regression" dont la méthode est décrite par *Draper et Smith*¹⁰³.

La régression multiple "pas à pas" (Stepwise manner) implique à chaque pas de la régression, l'introduction dans l'équation de la régression d'une nouvelle variable ($x_1, x_2, \dots, x_n$). Cette variable est celle qui apporte la plus grande diminution des carrés des écarts entre les valeurs observées et prédites, ce qui équivaut au plus grand facteur de corrélation partielle avec la variable dépendante.

En connaissant les corrélations partielles, il est aussi possible de calculer les valeurs théoriques de la variable dépendante¹⁰⁴.

La régression multiple "Stepwise" implique également un réexamen des variables incorporées dans le modèle aux différentes étapes prévues. Ainsi, lorsqu'une variable n'amène, à un moment donné, plus aucune amélioration significative dans l'élaboration du modèle, elle est éliminée. Ceci se fait grâce à la détermination de la valeur de F, à chaque étape de la régression et pour chaque variable.

III.8.6.2 Résultats

Le modèle que nous proposons est un polynôme du 2ème degré; il s'applique aussi bien aux deux valeurs indépendantes, temps (x_1) et grandeur des particules (x_2) qu'à celles du temps (x_1) et de la force de compression (x_3). La variable dépendante est le logarithme naturel du pourcentage non libéré de drotavérine coprécipitée incorporée dans la matrice cellulosique.

Les ajustements obtenus sont satisfaisants puisque les coefficients de corrélation sont respectivement de 0,975 pour les variables temps et grandeur des particules et de 0,967 pour les variables temps et force de compression (l'introduction dans le modèle d'une variable supplémentaire, le pH, n'amène pas une amélioration significative).

Grandeur des particules

La libération de la drotavérine coprécipitée et incorporée à la matrice cellulosique est représentée par l'équation suivante, lorsqu'on varie la grandeur des particules :

$$\ln R = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 x_1^2 + a_4 x_2^2 + a_5 x_1 x_2$$

$\ln R$ = logarithme naturel du pourcent restant de principe actif

a_n = coefficients des termes du polynôme

La signification des variables est indiquée dans le tableau 13a et les résultats de l'analyse par régression multiple sont donnés dans le tableau 14. Le tableau 15 examine les différences entre les valeurs observées et celles calculées par la régression multiple à l'aide de la méthode "Stepwise"¹⁰⁵. Les graphiques des figures 18 et 19 représentent les courbes combinées de l'analyse par régression multiple et les courbes de niveaux pour les variables temps (x_1) et grandeur des particules (x_2).

Tableau 13

Signification des variables

13a - Signification des variables x_1 , x_2

x_1	Temps (terme linéaire)
x_2	Grandeur des particules (terme linéaire)
$x_1 x_1$	Temps x temps (terme quadratique)
$x_2 x_2$	Grandeur des particules x grandeur des particules (terme quadratique)
$x_1 x_2$	Temps x grandeur des particules (terme interactif)

13b - Signification des variables x_1 , x_3

x_1	Temps (terme linéaire)
x_3	Force de compression (terme linéaire)
$x_1 x_1$	Temps x temps (terme quadratique)
$x_3 x_3$	Force de compression x force de compression (terme quadratique)

Tableau 14

Résultats de l'analyse par régression multiple pour
les deux variables indépendantes : temps (x_1) et
grandeur des particules (x_2)

Variabiles	Coefficient *	Valeur de F	Coefficient de corrélacion partiel
x_1	-1,02598	61,36	0,740
x_2	-0,02031	38,86	0,010
x_1^2	0,06241	21,05	0,069
x_2^2	0,00002	35,91	0,118
x_1x_2	0,00039	6,27	0,014
Terme constant a_0	9,41176		

* Les coefficients sont représentés par des nombres à 5 décimales à cause de leurs petites valeurs encore significatives.

Tableau 15

Valeurs de $\ln R^*$ en fonction du temps et de la
grandeur des particules

Grandeur des particules [μm]	Temps [h]	Valeurs observées [mg%]	Valeurs théoriques [mg%]	Différences [mg%]
800 - 500 $\overline{\mu\text{m}} = 650$	0-1	3,976	3,989	- 0,013
	1-2	3,250	3,402	- 0,152
	2-3	2,741	2,939	- 0,198
	3-4	2,632	2,601	0,031
	4-5	2,518	2,388	0,180
	5-6	2,451	2,300	0,151
	6-7	2,389	2,337	0,052
500 - 315 $\overline{\mu\text{m}} = 407,5$	0-1	4,079	3,667	0,412
	1-2	3,238	2,986	0,252
	2-3	2,459	2,429	0,030
	3-4	1,974	1,998	- 0,024
	4-5	1,569	1,691	- 0,122
	5-6	1,281	1,509	- 0,228
	6-7	1,131	1,452	- 0,321
315 - 250 $\overline{\mu\text{m}} = 282,5$	0-1	4,133	4,424	- 0,291
	1-2	3,544	3,694	- 0,150
	2-3	3,011	3,089	- 0,792
	3-4	2,674	2,609	0,065
	4-5	2,379	2,255	0,124
	5-6	2,208	2,025	0,183
	6-7	2,067	1,919	0,148

* $\ln R = \log$ naturel du % non libéré.

Figure 18

Courbes combinées de l'analyse par régression multiple :
étude de la taille des particules, contribution des
variables x_1, x_2 soit $x_1 = \text{temps}$
 $x_2 = \text{grandeur des particules}$

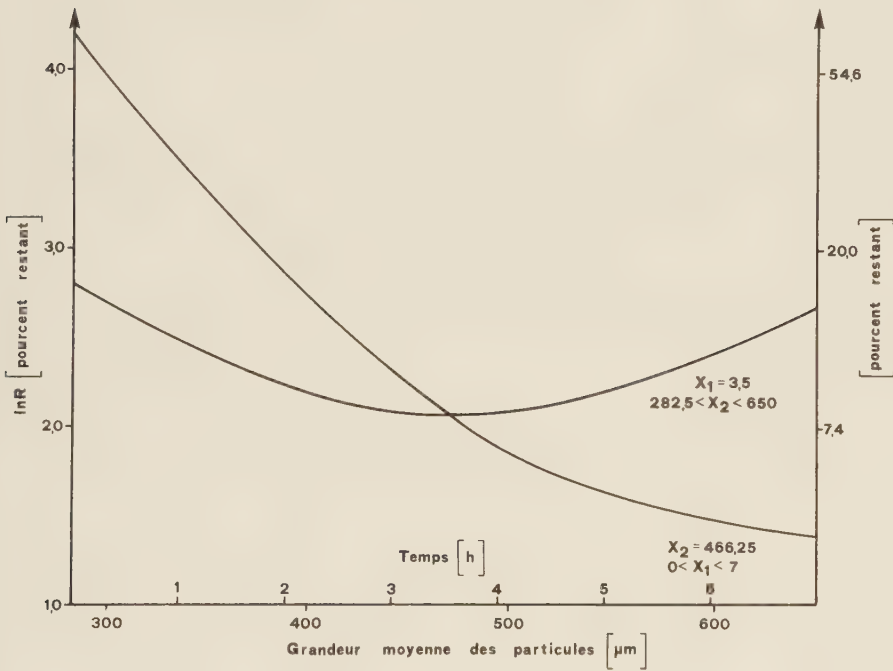
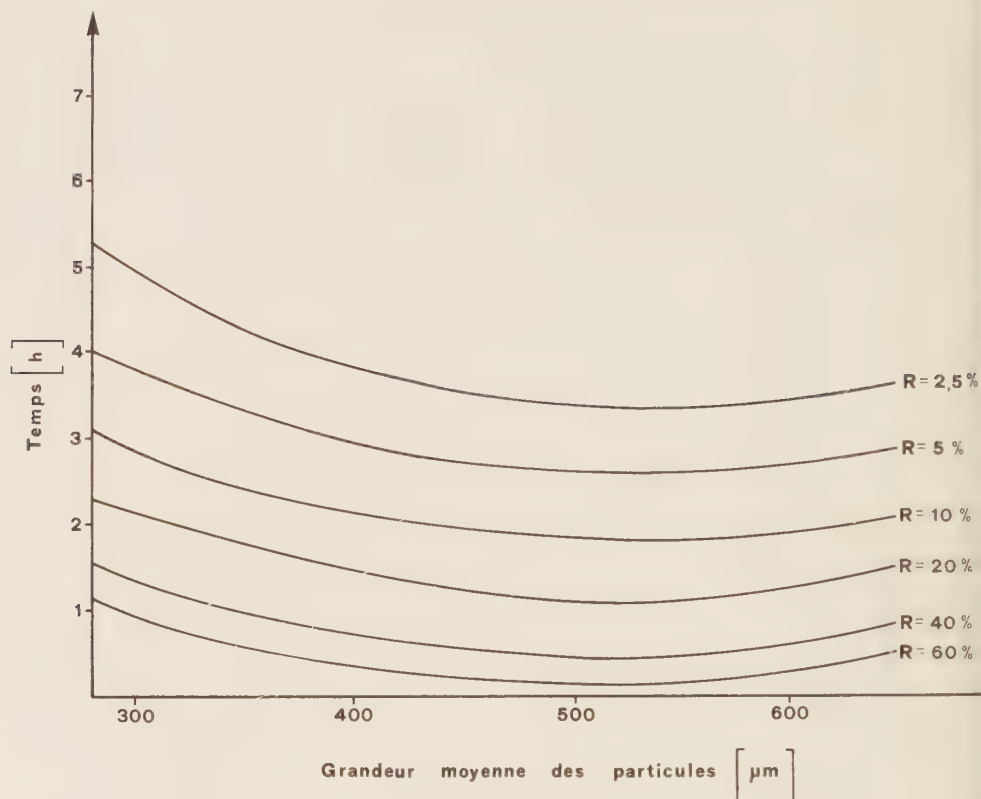


Figure 19

Projection du modèle



Force de compression

Lorsque la force de compression varie, l'équation de la libération est représentée par la formule suivante, pour laquelle la signification des variables est donnée dans le tableau 13b :

$$\ln R = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_3 + a_3 x_1^2 + a_4 x_3^2$$

Les résultats de l'analyse de la régression multiple, ainsi que les différences entre les valeurs observées et celles calculées sont données dans les tableaux 16 et 17. Les graphiques des figures 20 et 21 représentent les courbes combinées de l'analyse par régression multiple et les courbes de niveaux pour les variables temps (x_1) et force de compression (x_3).

Tableau 16

*Résultats de l'analyse par régression multiple
pour les deux variables indépendantes :
temps (x_1) et pression (x_3)*

Variabes	Coefficient *	Valeur de F	Coefficient de corrélacion partiel
x_1	- 0,64234	133,21	0,718
x_3	0,00115	19,96	0,103
x_1^2	0,05019	54,50	0,094
x_3^2	- 0,00000	13,00	0,022

* Les coefficients sont représentés par des nombres à 5 décimales à cause de leurs petites valeurs encore significatives.

Figure 20

Courbes combinées de l'analyse par régression multiple :
étude de la force de compression, contribution des
variables x_1, x_3 soit $x_1 = \text{temps}$
soit $x_3 = \text{force de compression}$

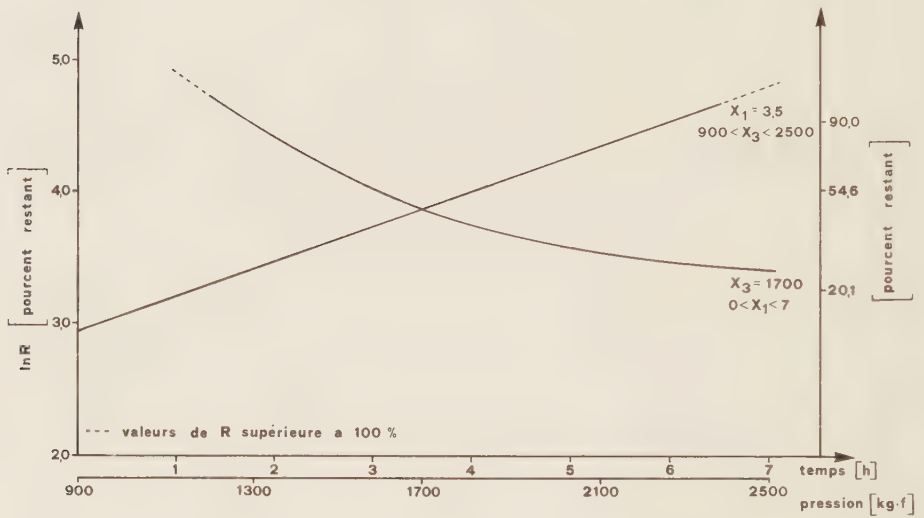


Figure 21

Projection du modèle

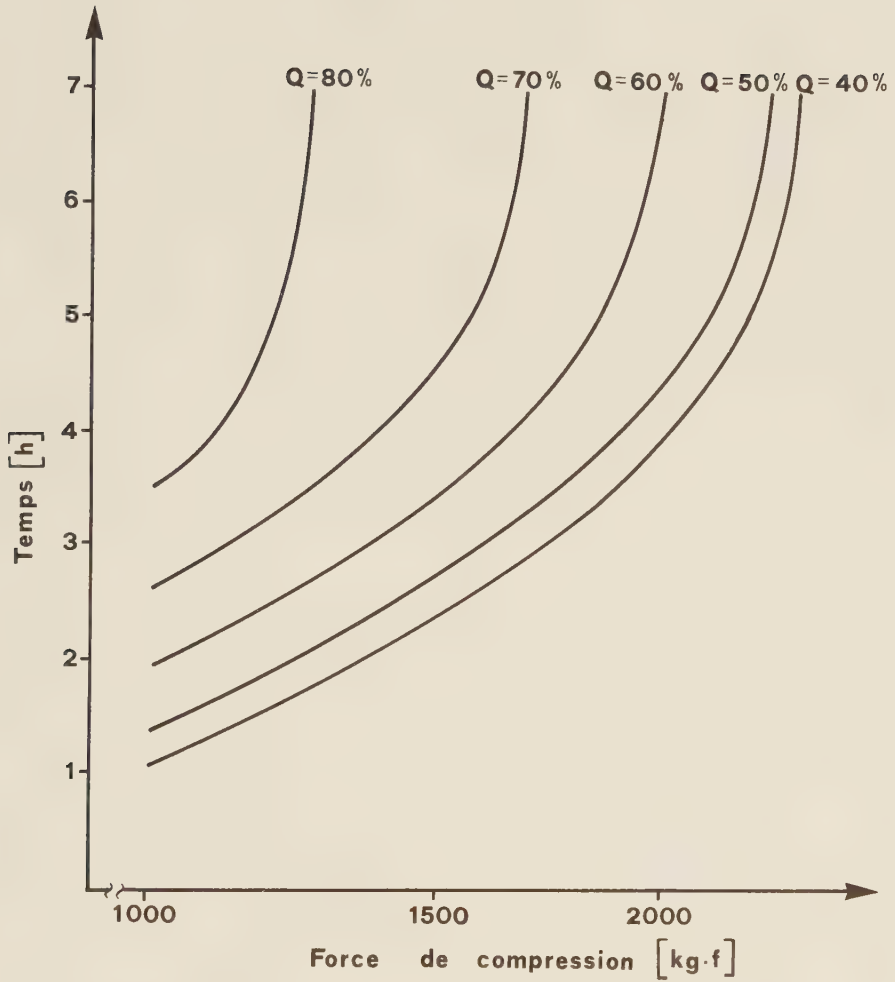


Tableau 17

Valeurs de $\ln R^$ en fonction du temps et de la
force de compression*

Force de compression [kgf]	Temps [h]	Valeurs observées [mg%]	Valeurs théoriques [mg%]	Différences [mg%]
1000	0-1	3,859	3,889	- 0,030
	1-2	3,555	3,671	- 0,116
	2-3	2,791	3,005	- 0,214
	3-4	2,501	2,714	- 0,213
	4-5	2,380	2,524	- 0,144
	5-6	2,230	2,434	- 0,214
	6-7	2,140	2,444	- 0,304
1100	0-1	3,980	3,953	0,027
	1-2	3,381	3,461	- 0,080
	2-3	2,970	3,070	- 0,100
	3-4	2,695	2,779	- 0,084
	4-5	2,518	2,588	- 0,070
	5-6	2,361	2,498	- 0,137
	6-7	2,230	2,508	- 0,278
1500	0-1	4,267	4,164	0,103
	1-2	3,816	3,672	0,144
	2-3	3,381	3,281	0,100
	3-4	3,059	2,990	0,069
	4-5	2,991	2,799	0,192
	5-6	2,918	2,709	0,209
	6-7	2,868	2,719	0,149

* $\ln R$ = logarithme naturel du % non libéré.

Tableau 17 (suite)

Force de compression [kgf]	Temps [h]	Valeurs observées [mg%]	Valeurs théoriques [mg%]	Différences [mg%]
2500	0,1	4,289	4,357	- 0,068
	1-2	3,820	3,865	- 0,045
	2-3	3,281	3,474	- 0,193
	3-4	3,073	3,183	- 0,110
	4-5	2,965	2,992	- 0,027
	5-6	2,934	2,902	0,032
	6-7	2,890	2,912	- 0,022

* $\ln R$ = logarithme naturel du % non libéré.

III.8.6.3 Commentaires des résultats

Grandeur des particules

L'analyse du tableau 14 indique que les valeurs des termes linéaires, quadratiques et interactifs sont significatives pour le seuil de probabilité $p = 0,05$. Les courbes combinées de l'analyse par régression multiple (fig. 18) montrent que, pour une granulométrie initiale donnée, le pourcentage en principe actif restant dans le comprimé, est assez fortement influencé par la taille des particules durant les trois premières heures; par contre, dès la 4ème heure, la taille des particules n'exerce qu'une

très faible influence sur le pourcent restant du principe actif. Au point 3,5 heures, pour une grandeur moyenne de particules de 450 μm , la vitesse de libération est la plus rapide. Pour des particules plus grandes ou plus petites, on constate un ralentissement dans la vitesse de libération.

La projection du modèle sur un plan, soit la variable dépendante, $\ln$ du pourcent restant en fonction du temps et de la grandeur des particules, permet de mieux visualiser l'importance du phénomène (fig. 19). Cette projection permet de se prononcer sur les possibilités de réaliser une forme médicamenteuse à partir de formulations théoriques.

Force de compression

Les résultats de l'analyse par régression multiple (tabl. 16) nous indiquent que les valeurs des termes linéaires et quadratiques sont significatives. En analysant les courbes combinées des variables temps et force de compression (fig. 20), on constate pour un temps donné une dépendance semi-logarithmique quasi linéaire de la force de compression sur R.

Pour une force de compression donnée, on observe au cours du temps, une diminution de la quantité restante, jusque vers la 7ème heure. Dès la 4ème heure, la diminution de R est moins accentuée qu'auparavant.

La projection du modèle sur un plan (fig. 21) illustre bien ce phénomène. On observe également que plus la force de compression augmente, plus la vitesse de libération diminue.

Le ralentissement de la diminution de R dès la 4ème heure s'explique par le pH peu favorable à la solubilité du principe actif.

III.9 Conclusions

La forme galénique que nous avons mise au point assure une libération *in vitro* estimée satisfaisante. Pour cette raison, elle va être administrée chez l'homme afin de connaître le lien existant entre les taux plasmatiques assurés par cette forme galénique et sa libération *in vitro* au cours du temps.

IV. Pharmacocinétique et essais in vivo

IV.1 Pharmacocinétique : définitions et objectif

La pharmacocinétique est l'étude, dans un organisme entier et en fonction du temps, de la concentration du principe actif et de ses métabolites dans le sang, les différents tissus et les excreta¹⁰⁶.

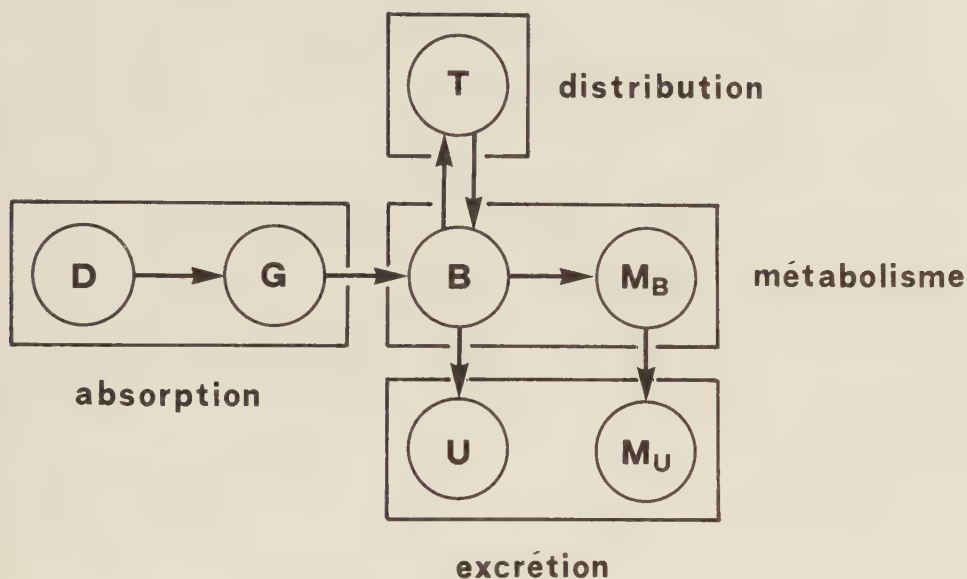
Elle décrit la vitesse des transferts intervenant dans l'organisme après l'administration d'un médicament. Ces études revêtent une grande importance, car elles permettent de quantifier les phénomènes d'absorption, de distribution et d'élimination du principe actif (fig. 22). Ces paramètres sont ensuite utilisés pour planifier de futures expériences ou pour simuler des résultats qu'il serait trop coûteux ou trop long d'obtenir par voie expérimentale. Ainsi, après détermination du comportement du principe actif, administré dans une forme galénique simple, une nouvelle forme pourra être élaborée, en vue de maintenir un niveau thérapeutique déterminé.

Les données expérimentales sont traitées mathématiquement par des modèles qui symbolisent l'organisme étudié; il s'agit évidemment d'une simplification, obligatoire mais néanmoins utile, comme nous le verrons par la suite

Figure 22

Objectifs de la pharmacocinétique

PHARMACOCINÉTIQUE



D (drug) = médicament dans sa forme galénique

G (gastro-intestinal) = principe actif dans le système digestif

B (blood) = principe actif dans le sang

T (tissus) = principe actif dans les "tissus"

M_B = métabolites dans le sang

U = principe actif dans les urines

M_U = métabolites dans les urines

IV.2 Pharmacocinétique et recherche d'une forme à libération contrôlée

La connaissance des caractéristiques cinétiques de la forme simple d'un médicament s'avère nécessaire en vue de l'élaboration d'une forme à libération prolongée. Elle permettra, en effet, de déterminer les principaux paramètres pharmacocinétiques, à savoir la biodisponibilité du principe actif administré sous la forme de référence, sa demi-vie et sa distribution dans l'organisme. Partant de ces paramètres, il sera, par exemple, possible de prédire, avant de procéder à l'expérimentation *in vivo*, si la forme à libération contrôlée est théoriquement apte à maintenir des taux thérapeutiques correspondant à l'administration quotidienne répétée de la forme simple.

IV.3 Facteurs représentatifs du comportement d'un médicament

La biodisponibilité, la demi-vie d'élimination et le volume apparent de distribution sont les principaux facteurs déterminants du comportement d'un médicament dans l'organisme.

La biodisponibilité est utile à l'évaluation d'une nouvelle forme galénique. Dans son sens le plus strict, la biodisponibilité implique la quantité de principe actif inchangé atteignant la biophase et la vitesse à laquelle le médicament parvient au site d'action^{107,108}. Comme il est généralement impossible d'effectuer des mesures dans la biophase (compartiment où se trouvent les récepteurs), on mesure la quantité de la molécule mère qui atteint la circulation sanguine^{109,110}. La biodisponibilité est alors la quantité de principe actif inchangé qui atteint la circulation générale après administration du produit à tester, par rapport à celle d'une forme standard. Dans la pratique, la biodisponibilité est souvent définie comme le pourcent de la dose administrée qui est absorbée¹¹¹.

De nombreuses méthodes pharmacocinétiques permettent d'estimer la biodisponibilité. Deux d'entre elles, la mesure de la surface sous la courbe des taux plasmatiques et celle de la quantité totale de principe actif et de ses métabolites éliminés dans les urines sont les plus utilisées pour comparer différentes formes galéniques.

A la condition que le médicament ne subisse pas d'effet de premier passage, la biodisponibilité F est égale à

$$F = \frac{(\text{dose})_{\text{standard}} \left[\int_0^{\infty} C \cdot dt \right]_{\text{échantillon}}}{(\text{dose})_{\text{échantillon}} \left[\int_0^{\infty} C \cdot dt \right]_{\text{standard}}}$$

où

$$\int_0^{\infty} C \cdot dt = \text{surface sous la courbe des taux sanguins en fonction du temps.}$$

Calculée avec les quantités totales inchangées de médicament excrété dans les urines U_o , la biodisponibilité s'exprime par

$$F = \frac{(\text{dose})_{\text{standard}} \left[U_o^{\infty} \right]_{\text{échantillon}}}{(\text{dose})_{\text{échantillon}} \left[U_o^{\infty} \right]_{\text{standard}}}$$

Remarquons cependant que ces techniques ne répondent que partiellement à la définition de biodisponibilité puisqu'elles ne tiennent compte que de la quantité de médicament absorbé en ignorant la vitesse de résorption. L'analyse cinétique des taux sanguins et des concentrations urinaires permet de satisfaire à cette dernière exigence.

Lorsque le principe actif est partiellement ou entièrement métabolisé et que les métabolites ont la même

activité que la molécule mère, les principes énoncés restent valables dans la pratique. Lorsqu'un médicament subit l'effet de premier passage, l'application stricte du concept et de la définition de la biodisponibilité peut conduire à des conclusions aberrantes. Il est fréquent qu'un médicament subisse un effet de premier passage hépatique lors de son administration orale, c'est-à-dire que si son absorption a lieu essentiellement au niveau du duodénum, le principe actif arrive dans le foie en très forte concentration par la veine porte. Si le principe actif est fortement attaqué par les enzymes hépatiques, seule une partie du médicament absorbé atteindra la circulation générale, le reste arrivant directement sous forme de métabolites. Puisqu'un tel phénomène de premier passage n'aura pas lieu lors de l'administration intraveineuse, on peut conclure que la biodisponibilité de la forme orale sera réduite par rapport à celle de la forme parentérale. Si le métabolite ne présente pas d'activité biologique, l'application rigoureuse de la définition de la biodisponibilité ne pose aucun problème.

Par contre, si le métabolite présente une activité pharmacologique semblable à celle de la molécule mère, le problème devient beaucoup plus complexe. En effet, en admettant par exemple que l'activité biologique et les propriétés pharmacocinétiques du métabolite et de la molécule mère soient identiques, on peut imaginer un médicament

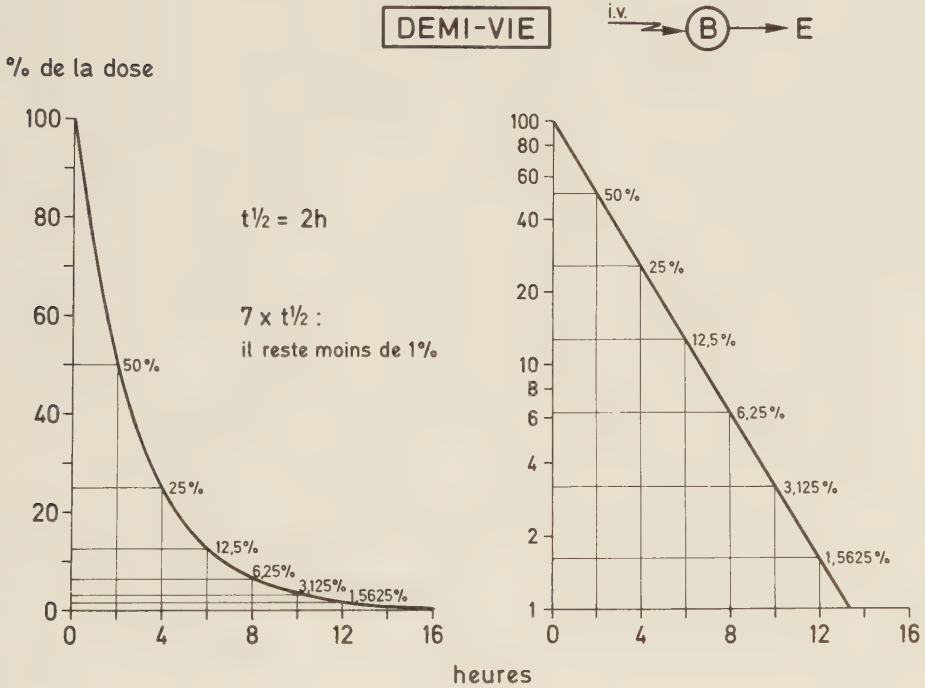
entièrement métabolisé lors du premier passage hépatique dont la biodisponibilité serait donc nulle, mais l'efficacité thérapeutique identique à une forme parentérale. Certes, de telles situations n'ont que peu de chance de se présenter, mais le problème se pose néanmoins avec certains médicaments dont les inhibiteurs des bêta-récepteurs en sont un des exemples les plus classiques : certains d'entre eux semblent résister à l'effet de premier passage, alors que d'autres tels que le propranolol ou l'alprenolol y sont très sensibles. La formation de métabolites actifs pour ces deux médicaments rend la comparaison dose-effet extrêmement difficile¹¹².

La demi-vie apparente d'élimination ($t_{1/2}$) représente le temps nécessaire pour que la concentration sanguine diminue de moitié (fig. 23). Cette demi-vie ne doit pas être confondue avec la demi-vie pharmacologique (mesure de l'intensité et de la durée de l'action). Elles sont semblables lorsqu'il y a une relation directe entre la concentration sanguine et la réponse biologique¹¹³.

Lorsque la cinétique d'élimination est de premier ordre, la demi-vie ne dépend pas de la dose administrée; elle est également indépendante de la voie d'administration (fig. 24).

Figure 23

*Temps nécessaire pour éliminer du sang le pourcent
indiqué de principe actif*



La quantité de médicament (D), présente dans
l'organisme et sa concentration plasmatique (p) sont liées
par une constante de proportionnalité (V_d) telle que :

$$D = V_d \cdot p$$

Cette constante est une grandeur abstraite dont l'unité est un volume et que l'on appelle *volume apparent de distribution*. Plus concrètement, le volume apparent de distribution représente le volume qui serait nécessaire pour contenir la quantité de principe actif dans l'organisme, si celui-ci se trouvait être dans tous les compartiments à la même concentration que dans le sang. Comme ce n'est en général pas le cas, il est appelé apparent. Le volume apparent de distribution est un paramètre très utile bien qu'on ne doive pas généralement lui attribuer une signification anatomo-physiologique; la seule exception notable se rencontre lorsque le médicament reste localisé dans le liquide extracellulaire, comme cela est le cas par exemple, pour l'inuline et le saccharose.

Lorsque le comportement d'un principe actif dans l'organisme peut être expliqué par un modèle bicompartimental (fig. 24), le volume apparent de distribution est égal à :

$$V_d = \frac{D_0}{\beta \cdot \int_0^{\infty} C \cdot dt}$$

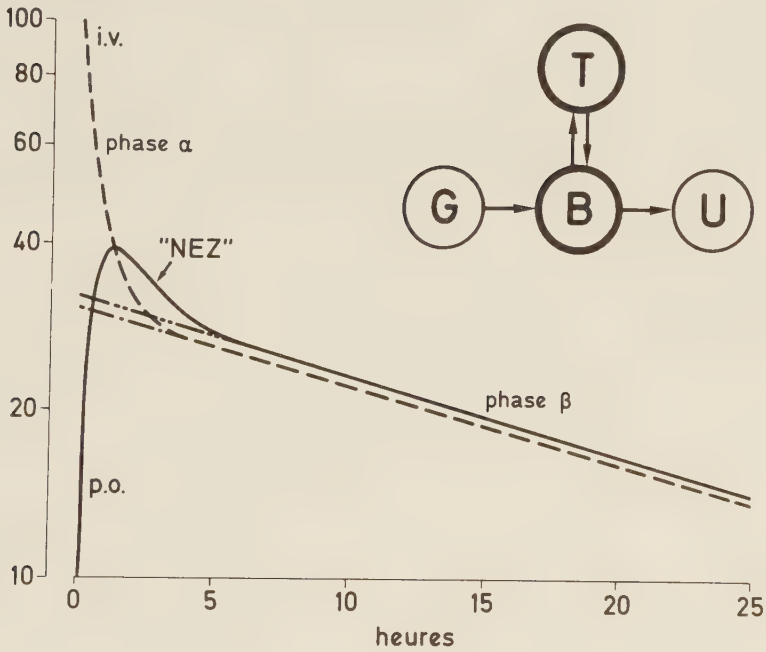
où D_0 représente la dose administrée et $\int_0^{\infty} C \cdot dt$, la surface sous la courbe des taux plasmatiques du temps zéro à l'infini (coordonnées linéaires) et β est la pente de la

droite terminale de la concentration plasmatique en fonction du temps (coordonnées semi-logarithmiques).

Figure 24

Modèle bicompartimental

% de la dose



IV.4 Modèles compartimentaux

L'interprétation des données de la pharmacocinétique se fait grâce à des modèles qui permettent d'analyser les processus d'absorption, de distribution et d'excrétion. Le modèle est une représentation symbolique et schématique de l'organisme étudié. En première analyse, on assimile l'organisme à un ensemble d'éléments hypothétiques reliés entre eux. L'expérimentateur soumet ce système encore inconnu à diverses stimulations externes (administration intraveineuse, per os, etc.). En se basant sur la nature de la stimulation et sur les réponses du système (taux sanguins, urinaires), on peut concevoir un modèle qui devra fournir une explication cohérente des résultats expérimentaux et qui permettra de prédire le comportement du médicament dans des conditions non encore étudiées¹¹⁴.

Un modèle est formé de plusieurs compartiments, c'est-à-dire d'un ensemble de tissus apparaissant homogènes du point de vue cinétique. Les compartiments sont séparés par des membranes qui retardent la libre diffusion des molécules d'un compartiment à l'autre. Les vitesses de transfert sont déterminées par des constantes de vitesse. On admet que les vitesses de transfert sont proportionnelles à la constante de vitesse et à la concentration du médicament dans le compartiment envisagé.

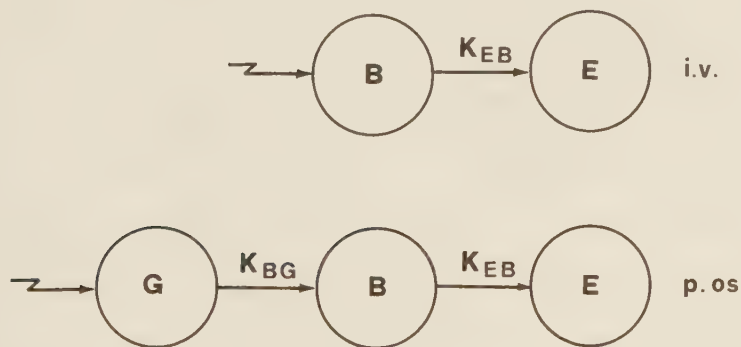
En règle générale, il ne faut pas attribuer une signification anatomo-physiologique au compartiment, même si parfois le terme de "tissu" est utilisé.

On renonce à imaginer des modèles trop compliqués car on pourrait alors calculer un grand nombre de solutions mathématiques satisfaisantes mais sans rapport avec le comportement du médicament. D'autre part, il faut éviter les modèles dont la trop grande simplicité constituerait un refus de la réalité.

Les modèles les plus souvent utilisés sont les modèles ouverts à 1, 2 ou 3 compartiments.

Figure 25

Modèle à un compartiment



B = sang (blood)

E = excréta

G = tractus gastro-intestinal

K_{EB} , K_{BG} = constantes de vitesse de passage du principe actif d'un compartiment à l'autre

Tableau 18

*Courbes de décroissance sanguine dans un modèle
à 1, 2 et 3 compartiments*

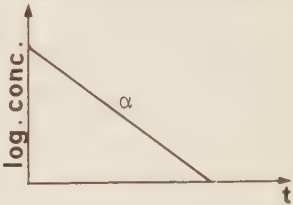
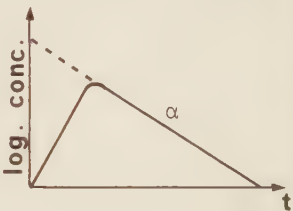
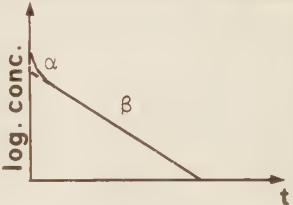
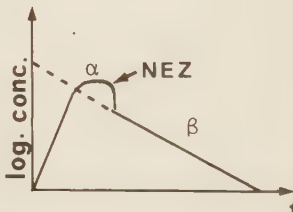
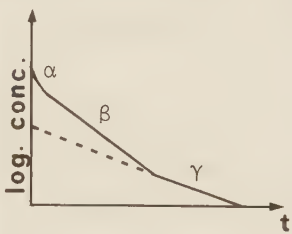
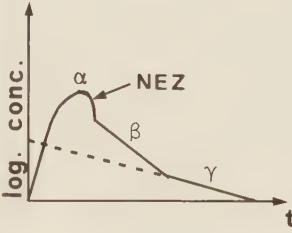
Modèles	Voie d'administration	Cinétique sanguine
a)	<u>Intravasculaire</u> intraveineuse, intracardiaque intra-artérielle $\text{conc.} = A \cdot e^{-\alpha t}$	
1 compartiment	<u>Extravasculaire</u> orale, rectale, intramusculaire, sous-cutanée, intracutanée $\text{conc.} = G \cdot e^{K_a \cdot t} + A \cdot e^{-\alpha t}$	
b)	<u>Intravasculaire</u> intraveineuse, intracardiaque intra-artérielle $\text{conc.} = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t}$	
2 compartiments	<u>Extravasculaire</u> orale, rectale, intramusculaire, sous-cutanée, intracutanée $\text{conc.} = G \cdot e^{K_a \cdot t} + A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t}$	

Tableau 18 (suite)

Modèles	Voie d'administration	Cinétique sanguine
c) 3 compartiments	<u>Intravasculaire</u> intraveineuse, intracardiaque intra-artérielle $\text{conc.} = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t} + C \cdot e^{-\gamma t}$ γ = phase d'élimination la plus lente	
	<u>Extravasculaire</u> orale, rectale, intramusculaire, sous-cutanée, intra-cutanée $\text{conc.} = G \cdot e^{K_a \cdot t} + A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t} + C \cdot e^{-\gamma t}$	

Le plus simple est appelé *modèle ouvert à 1 compartiment* (Fig. 25), tabl. 18). Dans cette situation, le principe actif entrant dans l'organisme est distribué instantanément entre le sang et les autres fluides du corps. Le médicament n'est pas nécessairement confiné au système circulatoire, mais peut occuper les liquides extracellulaires, les tissus ou le corps entier¹¹⁵.

Un *modèle ouvert à 2 ou 3 compartiments* est un système dans lequel le principe actif entrant dans l'organisme n'est pas distribué et équilibré instantanément entre

le sang et les autres liquides ou tissus qu'il atteint éventuellement. La distribution du principe actif dans le sang et dans les tissus "superficiels" ($T_s = \text{shallow}$) ou les tissus "profonds" ($T_d = \text{deep}$) apparaît à des vitesses différentes.

Les modèles formulés (fig. 24,25, tabl. 18) sont décrits mathématiquement par des systèmes homogènes d'équations différentielles linéaires à coefficients constants (K_{ij}); ainsi, le modèle 28a se décrit pour le compartiment B par l'équation suivante :

$$\frac{dB}{dt} = K_{BG} \cdot G + K_{BT} \cdot T - K_{TB} \cdot B - K_{EB} \cdot B$$

Le tableau 18 représente les éliminations de premier ordre dans des modèles à 1, 2 et 3 compartiments.

On admet généralement que les cinétiques des transferts sont linéaires. Cependant, il est de plus en plus évident qu'il s'agit de simplifications, souvent légitimes mais qui parfois ne le sont pas. En effet, dans la pratique, on observe assez souvent des déviations plus ou moins importantes du comportement des médicaments par rapport à une cinétique linéaire. Ces phénomènes sont généralement la conséquence de processus saturables, tels que le métabolisme ou l'élimination rénale par voie tubulaire. Le cas le plus

connu est celui du métabolisme de l'éthanol dont la vitesse est d'environ 0,2 °/oo par heure quelle que soit l'alcoolémie; il s'agit donc ici d'un processus d'ordre zéro.

IV.5 Paramètres variables en analyse compartimentale

La biodisponibilité, la demi-vie apparente d'élimination et la distribution d'un médicament peuvent être déterminées par l'analyse compartimentale. En effet, il existe des relations arithmétiques simples entre ces caractéristiques du comportement du principe actif et les spécifications des modèles multicompartimentaux : nombre de compartiments, sens des transferts, constantes de vitesse, volume des compartiments. Les deux premières sont choisies arbitrairement par l'analyste lors de la formulation d'un modèle; les deux dernières découlent de l'analyse mathématique des données expérimentales, en fonction du modèle choisi.

Les constantes de transfert indiquent la vitesse à laquelle le principe actif entre dans le compartiment central, est distribué entre ce compartiment et les tissus, et la vitesse à laquelle il est éliminé. C'est ainsi que dans un modèle ouvert à un compartiment (cf. IV.4), la demi-vie apparente d'élimination est liée à la constante d'élimination par la relation suivante :

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693}{K_e}$$

où K_e représente la pente de la droite décrite dans la phase d'élimination, par la représentation semi-logarithmique des taux sanguins en fonction du temps. Pour des modèles plus complexes, la demi-vie apparente d'élimination est liée arithmétiquement à plusieurs constantes de transfert (cf. IV.6).

Pour des raisons d'algèbre matriciel et selon une convention internationale, nous utiliserons ici la convention "into-from", c'est-à-dire que les constantes de vitesse sont désignées suivant la définition qu'en donne *Browne*¹¹⁶ : la constante K_{ij} est une constante de transfert d'un principe actif du compartiment j au compartiment i .

Le volume apparent V_b du compartiment central est un paramètre volumique fondamental pour l'analyse compartimentale. En effet, la structure du programme DIFLIN¹¹⁷ que nous avons utilisé est conçue de façon à ne faire intervenir pour le calcul que les quantités de médicament dans les différents compartiments, alors que seules les concentrations peuvent être mesurées (taux plasmatiques). La concentration plasmatique du principe actif b et la quantité de principe actif B dans le compartiment central sont reliées par l'équation suivante :

$$B = b \cdot V_b$$

IV.6 Analyse graphique¹¹⁸

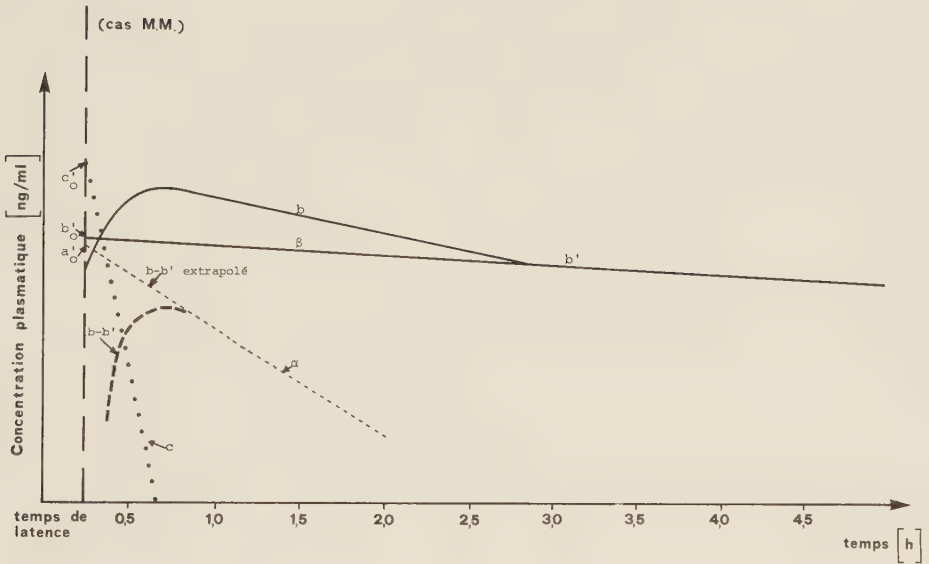
L'analyse graphique utilise la technique du "lissage" pour déterminer les valeurs initiales des différents paramètres nécessaires à l'analyse sur ordinateur. Les concentrations plasmatiques en fonction du temps sont portées sur papier semi-logarithmique. Le modèle est choisi en fonction du profil de la courbe obtenue (tabl. 18). Dans les paragraphes qui vont suivre, les différentes constantes de vitesse pour un modèle ouvert à 2 compartiments après administration orale seront calculées (tabl. 19, fig. 26).

Tableau 19
Exemple de calculs des valeurs initiales des coefficient K_{ij} (cas M.M.)

La détermination des paramètres $c'_0 = a'_0 + b'_0$ calculé en prenant l'origine au temps zéro a démontré l'existence d'un temps de latence situé à environ 15 minutes. Les paramètres sont alors calculés $/18$ en prenant l'origine à 15 minutes

Concentrations plasmatiques nécessaires au calcul de b-b' et de α		Calcul de b - b'	
Temps [h]	ng/ml		
0,25	701,3	pour 0,50 h : 1406 - 960 = 440 ng/ml	
0,50	1406,6	0,75 h : 1485 - 940 = 545 "	
0,75	1485,3	1,00 h : 1373 - 920 = 453 "	
1,00	1372,7	1,25 h : 1275 - 900 = 375 "	
1,50	1170,2	1,50 h : 1170 - 880 = 290 "	
2,00	1016,4	1,75 h : 1095 - 865 = 230 "	
2,50	879,1		
3,00	804,6		
4,00	721,9	$a'_0 : 930 \text{ ng/ml}$	$b'_0 = 980 \text{ ng/ml}$
5,00	676,6	$\alpha = \frac{\ln 453 - \ln 290}{1,5-1}$	$= 0,8920 \text{ h}^{-1}$
6,00	655,6	$\beta = \frac{\ln 721,97 - \ln 655,61}{6-4}$	$= 0,0481 \text{ h}^{-1}$
8,00	576,3		
10,00	505,1	$K_{BG} = c = \frac{\ln 650 - \ln 130}{0,625-0,375}$	$= 6,4380 \text{ h}^{-1}$
15,00	403,7		
24,00	355,3	$K_{BT} = \frac{(980 \times 0,892) + (930 \times 0,0481)}{1910}$	$= 0,4611 \text{ h}^{-1}$
		$K_{EB} = \frac{980}{0,0481} + \frac{930}{0,8920}$	$= 0,0893 \text{ h}^{-1}$
		$K_{TB} = 0,8920 + 0,0481 - (0,4811 + 0,0893)$	$= 0,3698 \text{ h}^{-1}$

Figure 26



Si les points des concentrations plasmatiques de la phase d'élimination (phase β) sont bien ordonnés, une ligne droite b' passant par ces points sera tracée et extrapolée jusqu'à l'ordonnée, déterminant le point b'_0 (fig. 26). Il est possible de déterminer β , valeur absolue de la pente de la phase d'élimination, par la formule suivante :

$$\beta = \frac{\ln b_2 - \ln b_1}{t_1 - t_2}$$

b_2 et b_1 représentent deux concentrations plasmatiques choisies dans la phase d'élimination. On peut aussi procéder à une régression linéaire de tous les points, mais la précision n'en est que rarement améliorée.

A partir de β , on peut calculer la demi-vie d'élimination au moyen de l'équation :

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693}{\beta}$$

Dans un deuxième temps, on peut tracer une courbe en soustrayant b' de b (fig. 26). Cette courbe ($b-b'$) devient une droite en représentation semi-logarithmique pour les derniers points calculés (a_1). Cette droite extrapolée jusqu'à l'ordonnée ($b-b'$ extrapolé) déterminera a'_0 . La pente de cette droite définit la phase α ou phase de distribution du principe actif depuis le compartiment central, B, dans les tissus périphériques, T.

$$\alpha = \frac{\ln a_2 - \ln a_1}{t_1 - t_2}$$

Enfin, la droite représentative de la phase d'absorption peut être déterminée graphiquement par différence de ($b-b'$ extrapolé) et de ($b-b'$) (fig. 26).

L'intersection de cette droite avec l'ordonnée c'_0 , est théoriquement égale à la somme de $a'_0 + b'_0$.

Si $c'_0 \gg a'_0 + b'_0$, on est souvent en présence d'une perturbation des phénomènes d'absorption : par exemple, lorsque le principe actif n'est résorbé qu'après un certain temps de latence ("LAG"). A ce stade, toutes les données sont disponibles pour permettre le calcul des principales constantes de transfert¹¹⁸ :

- 1) La constante d'absorption K_{BG} correspondant à la pente c :

$$K_{BG} = c = \frac{\ln C_2 - \ln C_1}{t_1 - t_2}$$

- 2) La constante de transfert du principe actif des tissus vers le compartiment central

$$K_{BT} = \frac{b'_0 \alpha + a'_0 \beta}{c'_0}$$

- 3) La constante d'élimination

$$K_{EB} = \frac{c'_0}{\frac{b'_0}{\beta} + \frac{a'_0}{\alpha}}$$

- 4) La constante de transfert du principe actif du compartiment central vers les tissus

$$K_{TB} = \alpha + \beta - (K_{BT} + K_{EB})$$

Notons ici que α et β sont liés aux constantes de transfert par les formules suivantes :

$$\alpha = 1/2 \left[K_{TB} + K_{BT} + K_{EB} + \sqrt{(K_{TB} + K_{BT} + K_{EB})^2 - 4K_{BT} \cdot K_{EB}} \right]$$

$$\beta = 1/2 \left[K_{TB} + K_{BT} + K_{EB} - \sqrt{(K_{TB} + K_{BT} + K_{EB})^2 - 4K_{BT} \cdot K_{EB}} \right]$$

IV.7 Analyse sur ordinateur

La méthode d'estimation graphique est basée sur un certain nombre d'opérations subjectives (par exemple, choix des points utilisés pour le calcul de la pente).

L'analyse sur ordinateur permet de calculer les paramètres variables sur la base de critères objectifs (moindre carré ou chi-carré). Le calcul est effectué sur un ordinateur CYBER 72/16 de CONTROL DATA CORPORATION. Le programme d'ajustement des données comprend, d'une part des algorithmes d'optimisation pour estimer les coefficients

(K_{ij}) des équations. L'intégration se fait par des méthodes analytiques directes et l'optimalisation par la combinaison de plusieurs méthodes (MINUITS) qui permettent d'une part une convergence malgré des valeurs initiales éloignées des valeurs finales et d'autre part la vérification de la convergence vers le même minimum.

IV.8 Partie expérimentale

Ce chapitre fait l'objet de l'étude de l'absorption, de la distribution et de l'élimination de la drotavérine dans l'organisme humain dont la pharmacocinétique n'a constitué jusqu'ici le but d'aucune recherche ni chez l'animal, ni chez l'homme, du moins à notre connaissance.

IV.8.1 Protocole

Nous avons sélectionné trois volontaires (informés et consentants), ne présentant aucun trouble digestif, hépatique ou métabolique (tabl. 20). Ils n'avaient absorbé aucun médicament 1 mois avant l'expérience. Le jour de l'essai, les sujets se présentent à jeûn. Ils boivent deux verres d'eau immédiatement après l'administration du principe actif, puis 2 heures après; ils prennent à midi un repas standard, essentiellement à base de protéines.

Tableau 20

Caractéristiques des sujets

Nom	Sexe	Age	Poids	Taille
R.D.	M	24	68	178
F.M.	M	22	75	192
M.M.	M	23	66	178

IV.8.1.1 Administration intraveineuse

Chaque sujet reçoit 37 mg de chlorhydrate de drotavérine marquée au carbone 14 (activité spécifique 5,88 $\mu\text{Ci/mg}$), en solution dans 2 ml d'eau. Le temps d'injection est de 1 minute.

Le sang est récolté (dans des tubes héparinisés) après 5, 10 et 15 minutes puis aux temps indiqués sur la figure 27. Les urines sont recueillies pendant 4 jours et les selles pendant 7 jours. Les intervalles des récoltes d'urine sont les suivants durant les 24 premières heures : 0-1 h; 1-2 h; 2-4 h; 4-8 h; 8-12 h; 12-24 h puis quotidiennement jusqu'au 4e jour.

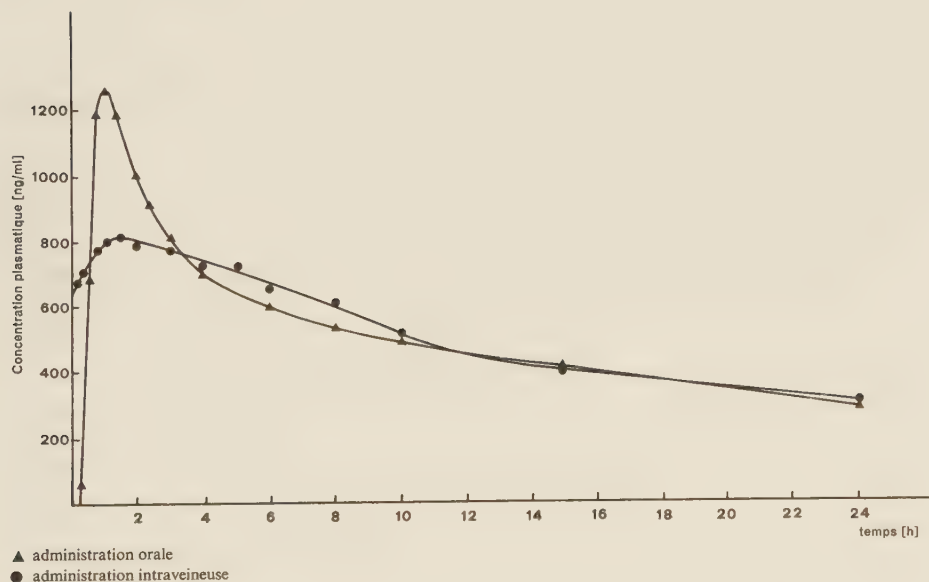
IV.8.1.2 Administration orale

Chaque sujet reçoit une solution aqueuse de 20 ml contenant 37 mg de chlorhydrate de ^{14}C -drotavérine (activité

spécifique 5,88 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$). Les prises de sang ont lieu de 0 à 24 heures aux temps indiqués sur la figure 27. Les urines et les selles sont recueillies selon le même mode que celui de l'administration intraveineuse.

Figure 27

*Concentrations plasmatiques après administration
d'une solution de 37 mg de ^{14}C -drotavérine*



IV.8.2 Mesure de la radioactivité

0,5 ml de plasma sont comptés dans 10 ml d'Aquasol (NEN) par scintillation liquide dans un compteur TRI/CARB 2425 (Packard). Les corrections pour le quenching sont effectuées par standardisation interne (^{14}C -toluène).

Les échantillons d'urine (0,1 à 0,2 ml) sont traités de la même manière que ceux du plasma.

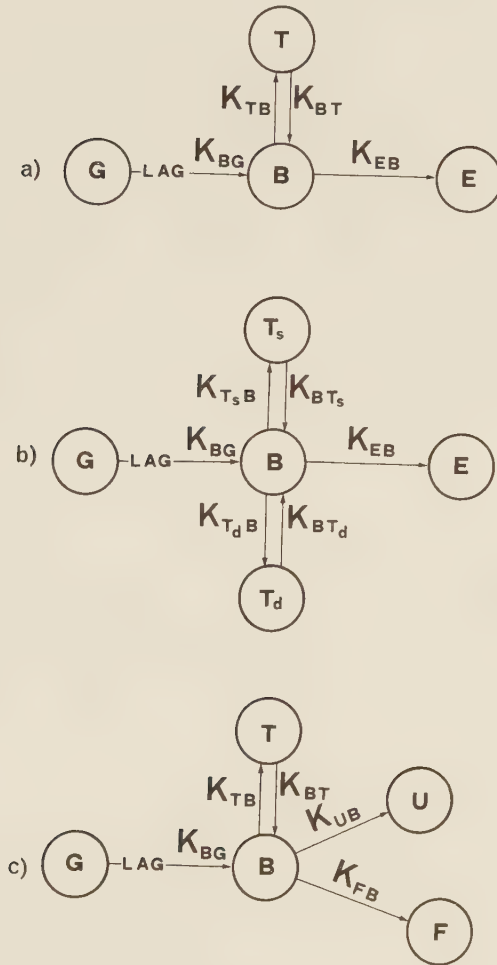
Les selles sont homogénéisées puis desséchées jusqu'à obtention d'un poids constant et brûlées dans un appareil de combustion Benox^R. Le CO₂ résultant de cette combustion est solubilisé dans 10 ml d'éthanolamine puis compté dans un compteur TRI/CARB 3000 (Packard).

IV.8.3 Traitement pharmacocinétique des résultats

Les valeurs initiales des coefficients K_{ij} (tabl. 19) dans les modèles formulés (fig. 28) sont déterminés par une analyse graphique (cf. IV.6). Les valeurs finales des coefficients sont obtenues sur ordinateur par l'application du critère des moindres carrés, avec une pondération qui tient compte des erreurs inhérentes au prélèvement et au dosage des échantillons¹¹⁷.

Figure 28

Modèles utilisés pour l'analyse pharmacocinétique



LAG = temps de latence
 G = système gastro-intestinal
 B = sang (blood)
 E = excréta
 T_s = tissu superficiel (shallow)
 T_d = tissu profond (deep)
 U = urines
 F = fèces

IV.9 Résultats et analyse pharmacocinétique

IV.9.1 Taux plasmatiques

La figure 27 est représentative des courbes plasmatiques obtenues après administrations intraveineuse et orale pour les 3 sujets.

Lors de l'administration orale, le maximum se situe entre 45 et 60 minutes et entre 60 et 90 minutes pour la voie intraveineuse avec un cas extrême à 10 minutes. A partir de la 10^e heure, les courbes sont pratiquement identiques.

IV.9.2 Elimination urinaire

L'élimination urinaire après administration orale est en moyenne de 50% et l'élimination fécale atteint environ 44% de la dose administrée. Après injection du principe actif, la quantité totale retrouvée dans les urines est de 43% en moyenne et celle retrouvée dans les selles est de 34%. Les tableaux 21 à 24 donnent les excrétions urinaires et biliaires cumulatives après administrations intraveineuse et orale.

Tableau 21

Elimination urinaire cumulative de la radioactivité totale après administration intraveineuse, en % de la dose administrée

Sujets	temps [h]								
	0-1	1-2	2-4	4-8	8-12	12-24	24-48	48-72	72-96
R.D.	1,9	5,2	12,1	22,1	27,4	34,1	39,3	43,0	47,7
F.M.	2,0	6,4	11,0	18,6	22,3	31,0	38,8	40,6	41,2
M.M.	2,1	5,2	10,3	16,6	22,0	30,3	37,8	43,3	44,9

Tableau 22

Excrétion fécale cumulative de la radioactivité totale après administration intraveineuse, en % de la dose administrée

Sujets	temps [h]							
	0-12	12-24	24-48	48-72	72-96	96-120	120-144	144-168
R.D.	5,5	10,9	16,2	20,4	27,7	29,6	29,9	31,0
F.M.	-	-	12,0	26,0	31,9	33,4	34,3	35,2
M.M.	0,1	-	10,7	24,2	28,7	34,1	35,0	36,1

Tableau 23

*Elimination urinaire cumulative de la radioactivité
totale après administration orale, en % de la
dose administrée*

Sujets	temps [h]								
	0-1	1-2	2-4	4-8	8-12	12-24	24-48	48-72	72-96
R.D.	5,3	11,8	20,7	31,4	39,3	49,0	55,9	57,7	57,7
F.M.	3,5	8,6	15,1	22,6	25,0	35,7	46,2	49,2	51,2
M.M.	5,4	10,0	14,2	21,5	25,8	31,3	41,0	*	*

Tableau 24

*Excrétion fécale cumulative de la radioactivité
totale après administration orale, en % de la
dose administrée*

Sujets	temps [h]						
	0-24	24-48	48-72	72-96	96-120	120-144	144-168
R.D.	20,7	25,4	34,3	37,0	38,4	38,7	38,8
F.M.	15,8	36,5	41,5	44,5	47,2	47,8	47,8
M.M.	13,8	35,9	42,7	45,8	*	*	*

* Récolte impossible.

IV.9.3 Analyse graphique

La présence d'un "nez" au niveau de la courbe plasmatique, en représentation semi-logarithmique (fig. 29), laisse présumer un modèle ouvert à 2 compartiments, la possibilité d'un artefact étant réduite grâce à la précision de la méthode de dosage. L'analyse graphique permet en plus de prévoir l'existence d'un temps de latence ($\ll \text{LAG} \gg$) (tabl. 19) dont il sera tenu compte au cours de cette étude.

IV.9.4 Analyse sur ordinateur

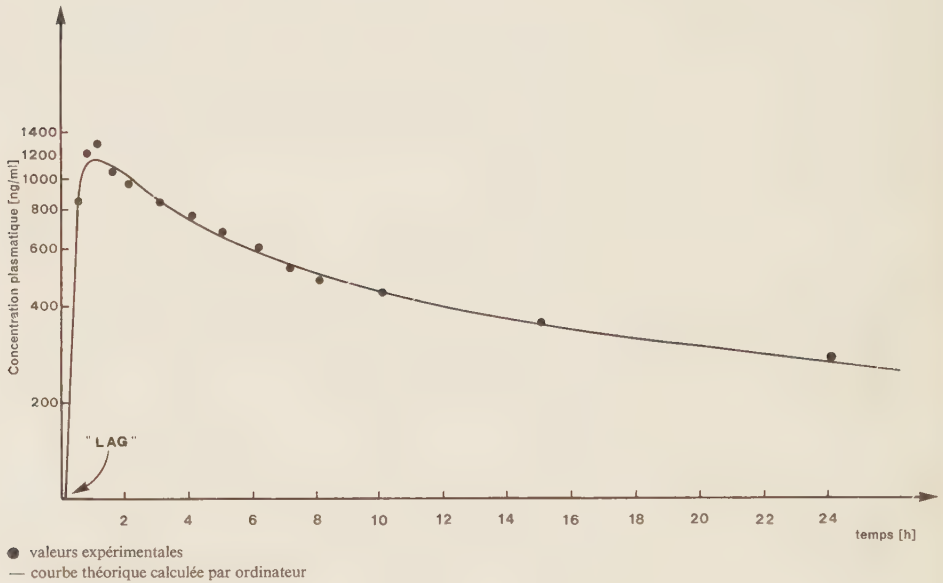
L'analyse sur ordinateur a été effectuée en plusieurs étapes en se basant sur la règle de parcimonie¹¹⁸, c'est-à-dire en introduisant un degré de liberté supplémentaire seulement si le modèle précédent ne conduit pas à une solution satisfaisante. L'utilisation d'un modèle à 2 compartiments avec un temps de latence permet un ajustement adéquat des données expérimentales pour les 3 sujets, après administration orale (fig. 29). Ce temps de latence se situe entre 10 et 15 minutes. Dans le cas où il est supprimé, l'ajustement des valeurs expérimentales aux valeurs théoriques n'est plus aussi bon puisque le chi-carré passe de 2,4 à 8,7.

L'adjonction d'un compartiment supplémentaire (fig. 28) n'amène aucune amélioration. Il est donc possible de conclure que les taux plasmatiques de la radioactivité

totale peuvent être représentés d'une manière adéquate par un modèle ouvert à 2 compartiments.

Figure 29

*Ajustement par ordinateur numérique de la radioactivité
plasmatique après administration orale de 37 mg de
 ^{14}C -drotavérine*

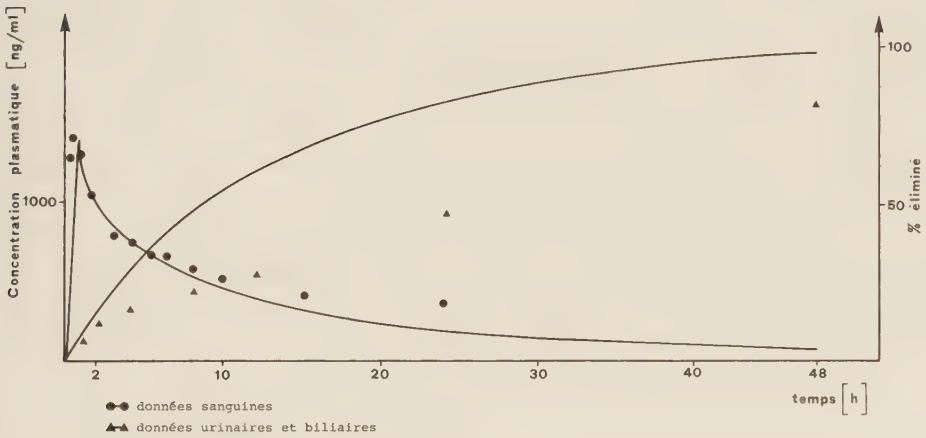


L'ajustement simultané des données plasmatiques et urinaires a été effectué selon deux modèles différents. Dans un premier temps, l'hypothèse d'une élimination urinaire et biliaire parallèles a été testée (fig. 28). Cette hypothèse dans laquelle l'élimination est représentée par une seule constante K_{EB} , ne permet pas d'obtenir un ajustement

satisfaisant (fig. 30).

Figure 30

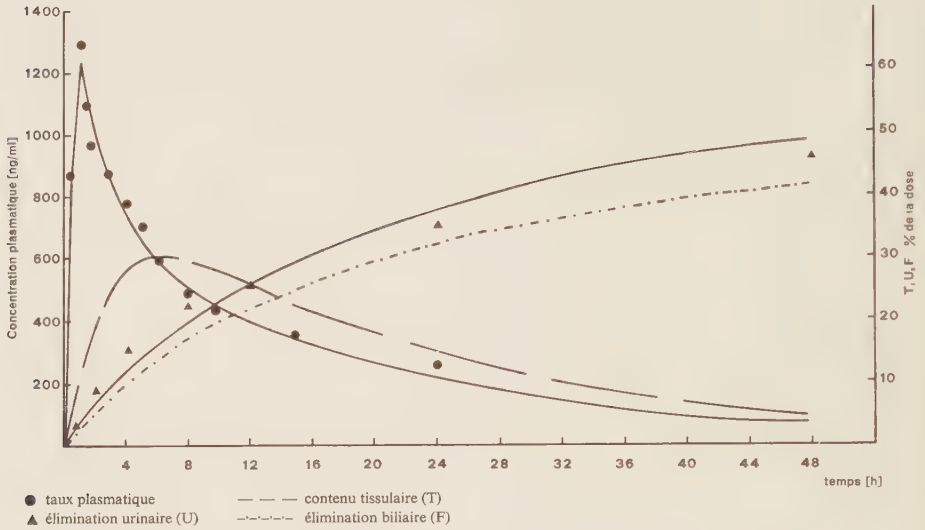
*Ajustement des données sanguines, urinaires et biliaires,
lorsque l'élimination est représentée par une
seule constante K_{EB}*



Par conséquent, nous avons opté pour des cinétiques d'élimination respectivement différentes (fig. 28c). Dans ce nouveau modèle, la constante d'élimination urinaire est représentée par K_{UB} et la constante d'élimination fécale par K_{FB} . Dans ces conditions, les ajustements sont satisfaisants (fig. 31).

Figure 31

*Ajustement par ordinateur et simulation du contenu
tissulaire*



Le tableau 25 indique les valeurs des K_{ij} initiaux et celles des K_{ij} terminaux après ajustement des données sanguines et urinaires.

Tableau 25

Valeurs des K_{ij} initiaux et valeurs des K_{ij} terminaux
après ajustement des données sanguines et urinaires

K_{ij}	F.M.		R.D.		M.M.	
	Initiaux	Terminaux	Initiaux	Terminaux	Initiaux	Terminaux
K_{BG}	3,8750	3,6266	3,4700	1,4909	6,4440	5,2983
K_{BT}	0,3645	0,2223	0,2596	0,5249	0,4810	0,3799
K_{UB}	0,0564*	0,0489	0,0586*	0,1100	0,0483*	0,0502
K_{TB}	0,6093	0,1741	0,2630	0,8477	0,3699	0,4199
K_{FB}	0,0517*	0,0418	0,0371*	0,0618	0,0409*	0,0463
K_{EB}	0,1081	0,0907*	0,0957	0,1718	0,0892	0,0965*
V_B	17,54	24,553	25,00	14,137	20,00	19,464

* Constantes déduites par le calcul de $K_{EB} = K_{UB} + K_{FB}$.

Remarquons cependant que les données expérimentales provenant des matières fécales ont servi uniquement à l'établissement des bilans d'élimination. Il n'est en effet pas judicieux d'utiliser ces données, car l'élimination des selles se fait toujours avec un certain retard par rapport à l'élimination dans les urines. De plus, cette dernière étant discontinuë, la cinétique qui en résulte est non linéaire.

IV.10 Discussion

Les différentes méthodes de dosage de la drotavérine se sont révélées insuffisamment sensibles et reproductibles dans les milieux biologiques. Pour cette raison, nous avons recouru à la drotavérine marquée au ^{14}C . Comme c'est toujours la radioactivité totale qui a été mesurée, les valeurs des K_{ij} et la structure des modèles ne doivent pas être interprétées d'une manière absolue sur le plan pharmacocinétique. Néanmoins, en raison de l'activité thérapeutique des métabolites¹¹⁹, ces données représentent une base utile pour le développement d'une forme galénique à libération prolongée de la drotavérine.

IV.10.1 Biodisponibilité sanguine et absorption gastro-intestinale

La quantité de drotavérine absorbée a été estimée d'une part sur la base des surfaces sous les courbes¹²⁰ (tabl. 26) en utilisant une modification de la règle du tiers de Simpson¹²¹.

Tableau 26

*Surface sous les courbes après administration
orale et intraveineuse*

Sujets	Voie orale [ng/ml.h]	Voie intraveineuse [ng/ml.h]
M.M.	23,904	25,026
R.D.	18,521	18,754
F.M.	17,379	16,975

Comme le montre la figure 27 et le tableau 26, ces surfaces sont à peu près identiques quelle que soit la voie d'administration. D'autre part, la quantité de drotavérine absorbée à été estimée sur la base de l'excrétion urinaire de la radioactivité, suivant les administrations orale et intraveineuse. Les valeurs mesurées sont du même ordre de grandeur et même un peu plus élevées pour la voie orale. Il est donc évident que l'absorption de la drotavérine administrée sous forme de solution est de l'ordre de 100%.

IV.10.2 Taux plasmatiques

Le phénomène observé après l'administration intraveineuse, c'est-à-dire l'apparition d'une courbe

plasmatique de même configuration que celle survenant après une administration orale, ne peut être expliqué avec certitude dans l'état actuel de nos connaissances. Les taux plasmatiques observés après l'administration orale de la drotavérine atteignent leur maximum en peu de temps, soit 1 heure après l'administration pour 2 de nos sujets et 45 minutes pour le troisième. L'absorption se fait par conséquent assez rapidement. La demi-vie apparente d'élimination est relativement lente; indépendamment de la voie d'administration, elle se situe à 16 heures en moyenne.

IV.10.3 Temps de latence

L'intervalle de temps (15 minutes) qui sépare l'administration orale de la solution de son absorption est conforme à l'hypothèse selon laquelle le site d'absorption préférentiel de la drotavérine est le duodénum¹²².

IV.10.4 Métabolisme

Quoique les résultats ne représentent que la radioactivité totale, ils sont cependant, selon toute vraisemblance, représentatifs de l'activité pharmacologique puisque tous les métabolites découverts jusqu'à ce jour ont la même activité que la drotavérine inchangée.

IV.10.5 *Elimination*

Les éliminations urinaires et fécales semblent complètes; de ce fait, il est peu probable que la drotavérine ou ses métabolites s'accumulent dans l'organisme lors d'une prise unique. Le phénomène de cumulation des taux sanguins est cependant vraisemblable, vu la demi-vie apparente d'élimination relativement lente du principe actif.

IV.11 *Techniques de simulation*

Avant l'avènement des moyens de calcul électronique, il était difficile, voire impossible d'imiter artificiellement le fonctionnement de systèmes biologiques complexes¹²³. Les techniques de simulation sur calculatrices analogiques ou numériques permettent maintenant de prédire le comportement d'un médicament dans des situations qui n'ont pas encore été étudiées expérimentalement.

La plupart des essais pharmacocinétiques biologiques ont une durée de plusieurs heures, voire de plusieurs jours. Grâce aux ordinateurs, il est maintenant possible d'analyser en quelques minutes ou même en quelques secondes quelle formulation, par exemple, parmi les différentes formes galéniques testées *in vitro*, serait la plus adéquate pour assurer le maintien des taux sanguins désirés pendant une durée prédéterminée. A cet effet, il faudra d'une part,

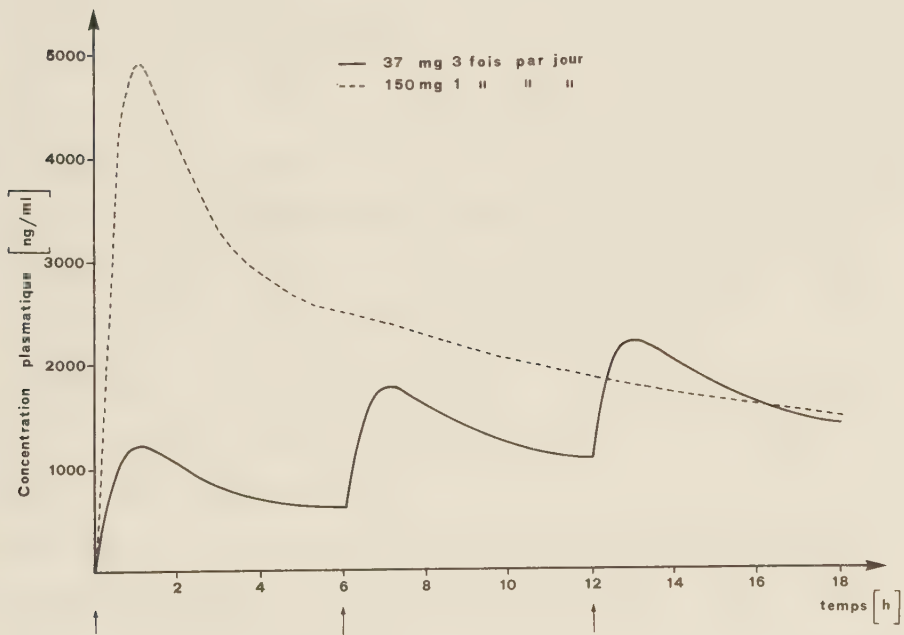
connaître le profil pharmacocinétique ou "empreinte digitale"¹²⁴ du médicament, et d'autre part, se baser sur le mode de libération *in vitro* du principe actif dans ses différentes formes galéniques. Une première estimation de la validité de la nouvelle forme galénique sera ainsi fournie plus rapidement et à moindre coût que s'il avait fallu procéder à de nombreux essais *in vivo*. Il faut cependant souligner, que l'efficacité thérapeutique de la forme galénique choisie à partir de la simulation, doit absolument être contrôlée *in vivo*, sous peine d'arriver à des conclusions parfaitement en contradiction avec la réalité¹²⁴.

Les simulations qui vont faire l'objet des paragraphes suivants ont pour but de déterminer les taux plasmatiques que l'on pourrait théoriquement obtenir avec des doses simples et répétées de drotavérine. La forme à libération prolongée sera elle aussi étudiée. Les doses de 37 et de 150 mg sont introduites dans le système gastro-intestinal G, sous forme d'une ou plusieurs barres dont la surface totale est égale à la dose et dont la hauteur et la largeur peuvent être choisies par l'utilisateur du programme. Il est aussi possible de reproduire par le calcul la cinétique de libération du principe actif comme le laisse prévoir l'expérimentation *in vitro*.

IV.11.1 Simulation avec une solution contenant 37 mg de
drotavérine administrée 3 fois par jour et
simulation avec une solution contenant 150 mg de
drotavérine administrée 1 fois par jour

Figure 32

Simulations avec des solutions de drotavérine



Les valeurs mesurées dans le compartiment central après introduction, chaque 6 heures, dans le compartiment représentatif du système gastro-intestinal d'une barre de surface égale à 37 mg simulent les taux plasmatiques (fig. 32) qui se rencontreraient lorsqu'un malade prend une dose de drotavérine (= NO-SPA^R) 3 fois par jour. Une seule prise, déjà, suffit à assurer des niveaux plasmatiques thérapeutiques¹²⁵. Lors de la 7ème heure, le pic maximum correspondant à la 2ème prise augmenterait de 150% par rapport à celui de la 1ère heure; celui de la 13ème heure, de 130% par rapport à celui de la 7ème heure : l'équilibre n'est pas atteint lors du premier jour de traitement.

La simulation des taux plasmatiques correspondant à l'administration de 150 mg 1 fois par jour (fig. 32) montre, comme il fallait s'y attendre, que la concentration plasmatique obtenue serait environ 4 fois supérieure à celle obtenue après une seule administration. Cette concentration est trop élevée car les taux plasmatiques qu'elle provoque peuvent induire des effets secondaires indésirables. Les plus fréquents se manifestent par des nausées, des vomissements, des céphalées ou de la sécheresse de la bouche; ils ne représentent toutefois que 2 à 3% des cas^{126,127}. Bien que ce pourcentage semble négligeable théoriquement, il acquiert dans la pratique médicale toute son importance, car il implique que chaque malade à qui le médecin est amené à prescrire ce médicament à forte dose, peut en subir les

effets secondaires. Cependant, la dose de 150 mg par jour n'entraînerait pas pour le malade des conséquences majeures, puisque l'on est très éloigné des doses entraînant des accidents graves^{128,129}.

La préparation d'une forme à libération prolongée semble donc justifiée puisqu'elle permet, en principe, de diminuer les risques de ces effets secondaires, mineurs certes, mais désagréables pour le malade.

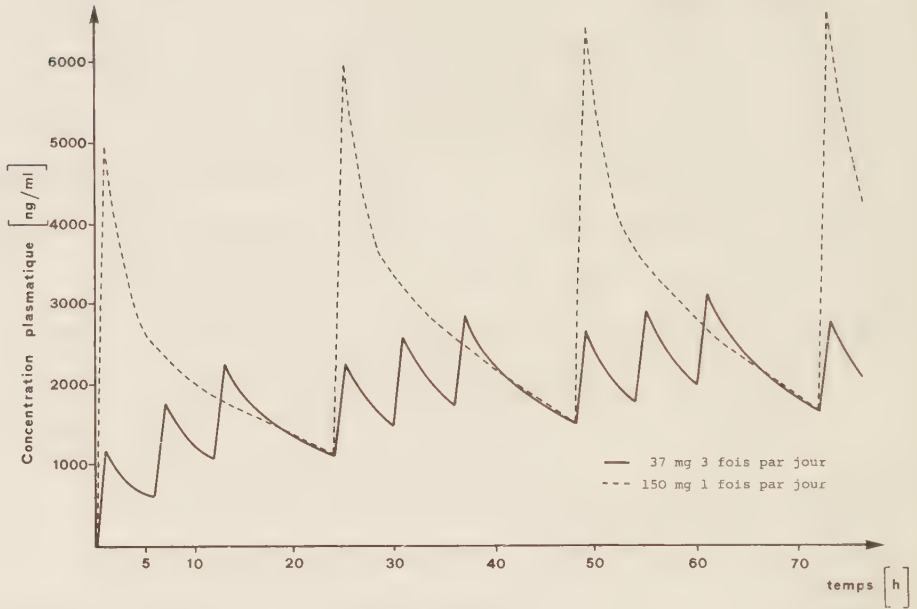
IV.11.2 Simulation sur 3 jours avec une solution contenant 37 mg de drotavérine administrée 3 fois par jour et simulation sur 3 jours avec une solution contenant 150 mg de drotavérine administrée 1 fois par jour

La figure 33 indique que l'équilibre est pratiquement atteint dès le troisième jour de l'administration, aussi bien avec la posologie de 37 mg 3 fois par jour, qu'avec celle de 150 mg 1 fois par jour.

Le dosage de 150 mg 1 fois par jour amène, comme nous l'avons déjà dit, des taux plasmatiques trop élevés, le sang véhiculant des concentrations médicamenteuses trop importantes sans aucun gain thérapeutique.

Figure 33

Simulation sur 3 jours avec des solutions de drotavérine



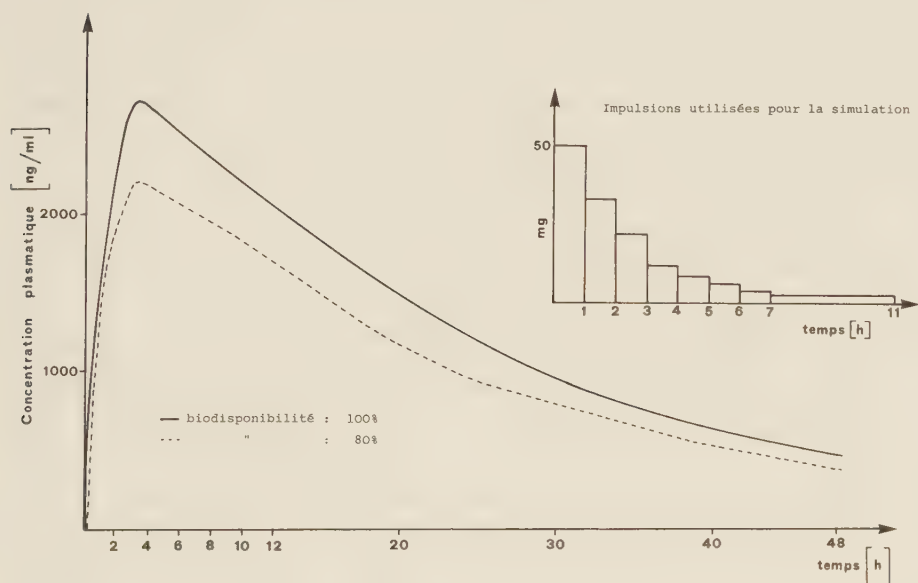
IV.11.3 Simulation avec la forme à action prolongée

La simulation avec une forme à action prolongée doit se faire en tenant compte des données obtenues dans des tests *in vitro* de libération du principe actif à partir de sa forme galénique. Les quantités de médicament libérées en fonction du temps sont représentées par des barres dont la longueur peut représenter le pourcent libéré qui sera absorbé et la largeur, le temps nécessaire à l'absorption de cette

fraction de la dose (fig. 34). Il serait certes préférable de travailler avec l'équation de la libération. Cependant, le programme DIFLIN ne le permet pas, dans sa forme actuelle. Il rend également impossible une simulation sur 3 jours de la libération prolongée.

Figure 34

Simulation avec la forme à libération prolongée



La figure 34 simule les taux plasmatiques obtenus après l'administration de la forme à libération contrôlée dont les quantités libérées, *in vitro*, en fonction du temps sont indiquées au chapitre III.8.2. Ces taux plasmatiques seraient représentatifs d'une biodisponibilité de 100%.

Si elle est inférieure, les taux plasmatiques seraient évidemment abaissés.

IV.12 Administration des comprimés à libération contrôlée

IV.12.1 Fabrication des comprimés avec la drotavérine marquée

Les comprimés de drotavérine radioactive sont préparés en 2 étapes. Dans une première phase, on prépare le coprécipité de drotavérine radioactive + PVP 1+2, la deuxième consistant à fabriquer le comprimé à libération contrôlée lui-même. Ainsi, 37 mg de chlorhydrate de ^{14}C -drotavérine (activité spécifique 5,88 $\mu\text{Ci/mg}$) sont mélangés à 113 mg de chlorhydrate de drotavérine non marquée et le mélange obtenu est coprécipité avec la PVP selon le mode opératoire déjà décrit. Après séchage puis broyage et tamisage de la masse (maille du tamis 800 μm), le support cellulosique dont le diamètre des particules est $< 500 \mu\text{m}$, est ajouté au coprécipité avec les excipients. La compression se fait à 754 kg/cm^2 (presse SPECAC) avec un poinçon de 1,3 cm de diamètre. La vitesse de libération du principe actif de même que la quantité totale de principe actif par comprimé sont doublement contrôlées par spectrophotométrie et par mesure de la radioactivité.

IV.12.2 Protocole

La forme à libération contrôlée a été administrée aux volontaires qui avaient participé aux études de pharmacocinétique avec les solutions aqueuses de chlorhydrate de drotavérine. Comme lors de ces essais, ils n'ont absorbé aucun médicament 1 mois avant l'expérience. Le jour de la prise du comprimé, ils se présentent à jeûn. Ils boivent deux verres d'eau immédiatement après l'administration du comprimé puis 2 heures après et prennent à midi un repas type, essentiellement à base de protéines.

Administration du comprimé à action contrôlée

Chaque sujet reçoit un comprimé contenant 150 mg de chlorhydrate de drotavérine (activité spécifique 1,45 μ Ci/mg).

Le sang est récolté dans des tubes héparinisés de 0 à 48 heures, aux temps indiqués sur la figure 35. Les urines sont recueillies durant 5 jours et les selles pendant 8 jours. Les intervalles des récoltes d'urine sont les suivants durant les 24 premières heures :

0-1 h; 1-2 h; 2-4 h; 4-8 h; 8-12 h; 12-24 h;

puis quotidiennement jusqu'au 5ème jour.

IV.12.3 Mesure de la radioactivité

Les techniques sont identiques à celles de l'étude de pharmacocinétique (cf. IV.8.2) aussi bien pour l'analyse de la radioactivité des échantillons de plasma et d'urines que des selles.

IV.12.4 Résultats

La figure 35 est représentative des courbes plasmatiques obtenues après administration du comprimé à action contrôlée. Deux maximums sont observés, le premier se situant entre 90 et 120 minutes pour les 3 sujets et le second entre 8 et 10 heures avec un cas extrême à 15 heures. L'élimination urinaire est en moyenne de 44% et l'élimination fécale atteint environ 51% de la dose administrée.

Figure 35

*Concentrations plasmatiques après administration de
la forme orale à action prolongée*

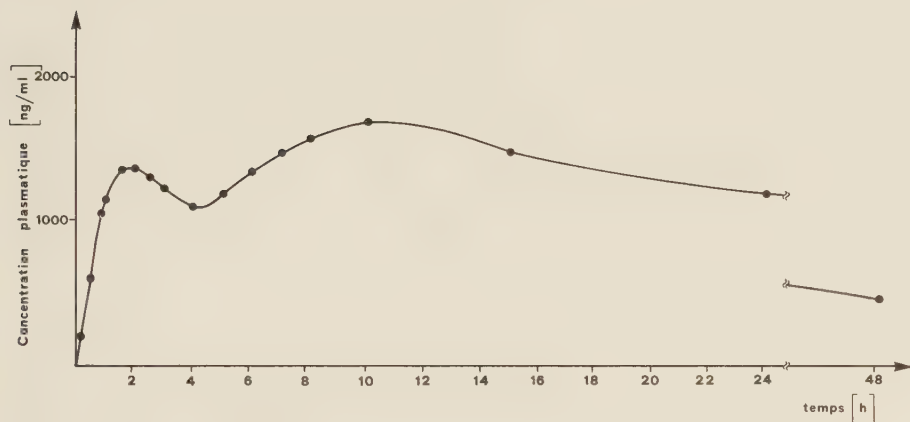


Tableau 27

*Elimination urinaire cumulative de la radioactivité
totale après administration de la forme orale
à action contrôlée*

Sujets	temps [h]									
	0-1	1-2	2-4	4-8	8-12	12-24	24-48	48-72	72-96	96-120
R.D.	1,2	3,2	6,3	10,9	13,2	23,9	42,1	44,3	46,2	46,9
F.M.	0,8	2,5	5,0	8,3	11,6	21,5	34,6	37,5	38,9	39,4
M.M.	1,1	3,2	7,3	15,3	22,5	31,2	39,4	42,9	44,7	45,6

Tableau 28
Excrétion fécale cumulative de la radioactivité totale après
administration de la forme orale à action contrôlée

Sujets	temps [h]									
	0-12	12-24	24-48	48-72	72-96	96-120	120-144	144-168	168-192	192-216
R.D.	0,01	17,6	30,8	44,4	45,9	49,7	50,7	51,2	51,4	51,5
F.M.	—	—	28,3	49,6	62,2	63,0	64,2	65,0	65,3	65,5
M.M.	0,1	17,2	23,5	25,1	39,0	41,9	43,9	45,0	45,7	*

* Récolte impossible.

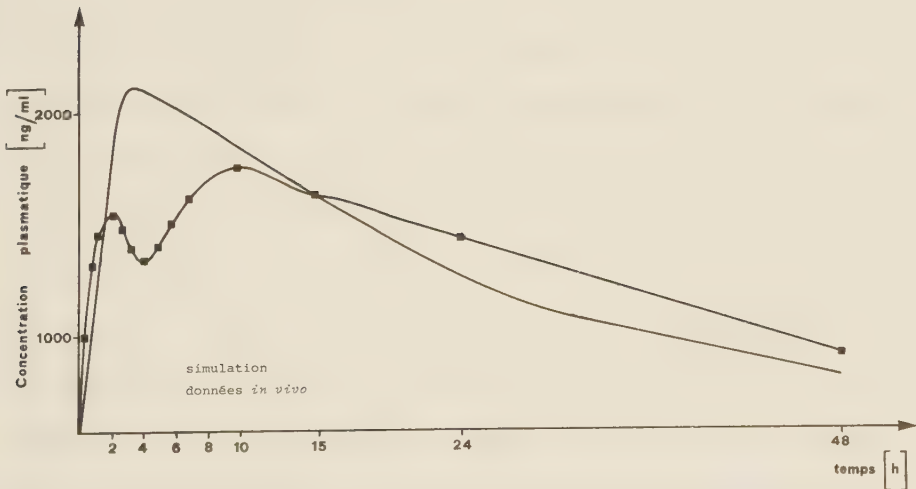
Les tableaux 27 et 28 donnent les excrétions urinaires et biliaires cumulatives après l'administration de la forme orale à action contrôlée.

IV.12.5 Discussion

Connaissant la pharmacocinétique de la drotavérine et la simulation de la forme à action prolongée, il n'est pas étonnant de mesurer des taux plasmatiques élevés 15 heures après la prise du comprimé (fig. 36).

Figure 36

Concentrations plasmatiques expérimentales et simulées après administration de la forme à libération prolongée [150 mg]



L'absorption cependant diffère de celle qui avait été prévue par la simulation. Elle se fait en deux temps. Deux facteurs pourraient expliquer ce phénomène : le site d'absorption optimal de la drotavérine étant le duodénum, ce principe actif est par conséquent mal absorbé au niveau gastrique. Par contre, la forme à libération contrôlée donne *in vitro* une libération rapide dans le suc gastrique puis plus lente dès que le pH atteint 6,2 (cf. III.8.2). La combinaison de ces deux caractéristiques permet une tentative d'explication du comportement biphasique de la drotavérine. Le comprimé à action contrôlée libère dans l'estomac durant 2 heures environ, une quantité importante de principe actif; cette drotavérine en solution n'est que partiellement absorbée. Le comprimé passe (d'un seul coup) le pylore pour arriver dans le duodénum, où il manifeste son effet de libération prolongée. Parallèlement, la drotavérine non absorbée, mais en solution, passe petit à petit de l'estomac dans l'intestin où elle devient immédiatement disponible pour l'absorption.

La forme à libération prolongée manifeste une deuxième irrégularité dans son comportement *in vivo*. En effet dès la 15ème heure, (fin de la libération du principe actif), les taux plasmatiques simulés diminuent en suivant une cinétique de premier ordre, ce qui n'est pas le cas *in vivo*

pour la forme à libération prolongée. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées :

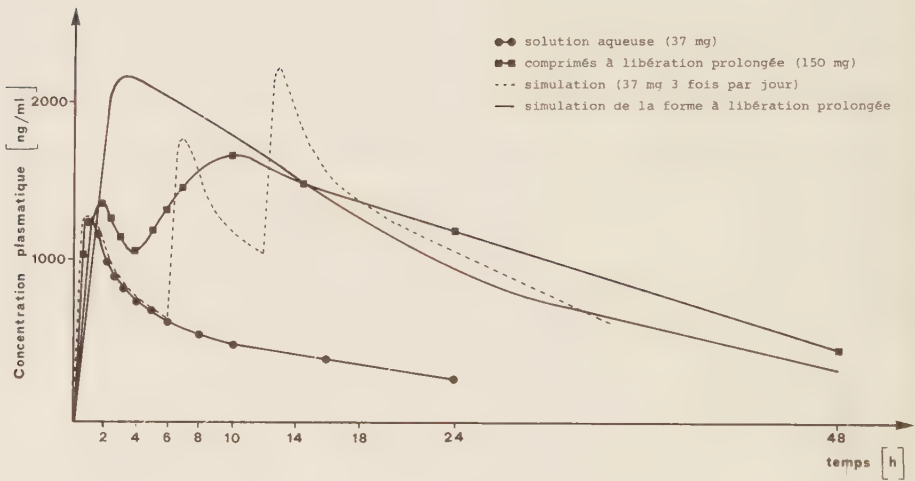
- 1) La présence d'une élimination partiellement saturée vu les hautes doses administrées, peut perturber la cinétique plasmatique.
- 2) La drotavérine présente un cycle entéro-hépatique et par conséquent une pseudo-absorption continue de se manifester après l'élimination dans le bol fécal du comprimé à action contrôlée.
- 3) La formation d'un métabolite dont le volume de distribution est plus faible que celui de la drotavérine inchangée provoque une déformation des courbes de radioactivité plasmatique totale.

Bien que ces phénomènes n'aient pas été mis en évidence avec l'administration de doses de 37 mg, il faut cependant en tenir compte car on ne peut logiquement penser que la libération contrôlée procure à elle seule des taux aussi élevés, 15 heures après la prise du comprimé.

Malgré les irrégularités de la cinétique dont nous venons de parler, on peut affirmer que cette forme assure des taux plasmatiques suffisants 24 heures encore après son administration (fig. 37) et qu'elle permet par conséquent d'éviter une surcharge de médicament dans le sang.

Figure 37

*Concentrations plasmatiques après administration d'une
solution aqueuse de drotavérine et de comprimés à
libération prolongée*



De plus, il est possible de réduire le rythme d'administration de 3 fois 1 comprimé par jour (40 mg) à 1 fois 1 comprimé (150 mg) à libération prolongée, facteur non négligeable pour la "compliance" du malade. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Nagy¹²⁵ qui indiquent que l'activité pharmacologique apparaît avec une dose de 40 mg.

La *biodisponibilité sanguine* a été calculée sur la base des surfaces sous la courbe¹²⁰ de la solution administrée par voie orale et de la forme à libération contrôlée. Elle est de 81,1%. Le même résultat (79,1%) est obtenu avec les quantités totales de drotavérine excrétées dans les urines.

Les *éliminations urinaire et fécale* sont complètes puisque 98,2% de la dose administrée sont retrouvés.

IV.13 Conclusion

Cette forme galénique se révèle satisfaisante, elle permet malgré une biodisponibilité inférieure à 100% d'assurer des taux plasmatiques uniformes et largement suffisants pour l'activité thérapeutique.

* * * * *

V. Conclusions générales et résumé

Ce travail a été consacré à la mise au point d'une forme de comprimé à libération prolongée, utilisant d'une part une matrice cellulosique insoluble et d'autre part une coprécipitation du principe actif avec une macromolécule hydrophile.

La première partie traite des matrices insolubles et des résultats des vitesses de libération des comprimés de drotavérine à libération prolongée constitués d'éthylcellulose. Les conclusions suivantes peuvent être tirées :

- en milieu gastrique, la libération du principe actif est fortement dépendante de la concentration en substance inerte. Elle est d'autant plus lente que la quantité d'éthylcellulose est plus grande.
- en milieu alcalin, la libération de la drotavérine est extrêmement lente et les variations de concentration en éthylcellulose n'y jouent qu'un rôle relativement faible, en raison des caractéristiques de solubilité de la drotavérine.

La seconde partie de cette étude relate la réalisation proprement dite du comprimé à libération prolongée et l'étude du coprécipité, ce dernier permettant d'améliorer la vitesse de dissolution de la drotavérine en milieu intestinal. Différents paramètres, tels que grandeur des particules du support et du principe actif coprécipité et force de compression ont été analysés par régression multiple.

Les résultats obtenus mettent en évidence les points suivants :

- La coprécipitation assure la libération désirée en milieu intestinal.
- Lorsque la taille des particules du support inerte diminue, le principe actif est libéré plus lentement de la matrice, comme on l'a déjà constaté avec la drotavérine non coprécipitée.
- La variation de la taille des particules du principe actif coprécipité n'exerce qu'une influence très faible sur la libération.
- Plus la force de compression augmente, plus la vitesse de libération diminue.

La troisième partie concerne la pharmacocinétique de la drotavérine chez l'homme, l'étude de quelques simulations et l'administration à des volontaires d'un comprimé à libération prolongée.

Les résultats obtenus conduisent aux conclusions suivantes :

- L'utilisation d'un modèle à 2 compartiments avec un temps de latence de 10 à 15 minutes et des cinétiques d'éliminations urinaire et fécale respectivement différentes permet un ajustement adéquat des données expérimentales.
- Les simulations effectuées avec le comprimé à libération prolongée et avec une forme simple contenant la même quantité de principe actif justifient la préparation de cette forme médicamenteuse, qui permet de diminuer les risques d'effets secondaires.
- L'administration chez l'homme du comprimé à libération prolongée assure des taux pharmacologiques suffisants 24 heures encore après l'ingestion, alors qu'ils nécessiteraient 3 à 4 prises quotidiennes avec des comprimés conventionnels.

L'étude pharmacocinétique confirme donc les résultats obtenus *in vitro* et par conséquent l'intérêt de l'association coprécipité et support cellulosique. Ainsi, une technologie adéquate a permis de résoudre le problème posé par les caractéristiques de solubilité de ce principe actif, à savoir forte en milieu gastrique et faible en milieu intestinal.

BIBLIOGRAPHIE

1. *Dávid A.*, Summary of the Examinations of NO-SPA, NO-SPA chemistry, Chinoin, Budapest, 1976, p. 1-13.
2. *Petrányi G. et Szegedi G.*, Orv. Hetilap 104, 2038 (1963).
3. *Hauschild F.*, Test Report, 1963.
4. *Szekeres L.*, Test Report, 1964.
5. *Petrányi G. et Szegedi G.*, Orv. Hetilap 104, 2039 (1963).
6. *Krasznai I. et Galos G.*, Orv. Hetilap 104, 165 (1963).
7. *Maklári L.*, Gyógyszereink 13, 5 (1963).
8. *Juhász B. et Pálos G.*, Gyógyszereink 15, 5 (1964).
9. *Lisevska D.*, "Communication lue à la 3e Conférence pour la Recherche thérapeutique et pharmacologique", Budapest, 1964.
10. *Gábor G. et Somogyi I.*, Gyógyszereink 14, 1 (1964).
11. *Lamm G. et Kálmán P.*, Orv. Hetilap 104, 837 (1964).
12. *Kosevnykov J.A.*, Gyógyszereink 15, 294 (1965).
13. *Kokosov A.N. et Hejnonen J.W.*, Gyógyszereink 15, 496 (1965).
14. *Lukomskii P.E.*, Test Report, 1965.
15. *Szécsi K.*, Test Report, 1963.
16. *Ravasz L.*, Gyógyszereink 14, 4 (1964).
17. *Farkas M. et Viskí S.*, Th. Hung. 15, — (1967).
18. *Bollobas B.*, Gyógyszereink 15, 218 (1965).
19. *Mattyus A.*, Th. Hung. 16, — (1968).

20. Documentation Chinoin, NO-SPA, Budapest.
21. *Sjögren J.*, Acta Pharm. Suec. 8, 153 (1971).
22. *Buri P.*, Schweiz. Z. Pharm. 114, 405 (1976).
23. *Ritschel W.A.*, Angewandte Biopharmazie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH, Stuttgart, Kapitel 25, 1973, p. 455.
24. *Sjögren J. et Fryklof L.*, Farm. Revy 59, 171 (1960).
25. *Levesque C.L.*, U.S. Patent 2 987 445 (1961).
26. Brit. Patent 808 014.
27. *Colbert J.C.*, Controlled drug action, Noyes Data Corporation, Park Ridge, New Jersey, London, 1974, p. 76.
28. *Rowe R.C., Elworthy P.H. et Ganderton D.*, J. Pharm. Pharmacol. 24, Suppl. 137P (1972).
29. *Bass T., Purdon R. et Riley J.*, Nature 208, 591 (1965).
30. *Powers K.G.*, J. Parasitol. 51, 53 (1965).
31. *Segal S.J.*, Future Prospects in Contraception. Proc. of the fifth World Congress on Fertility and Sterility, Stockholm, June 1976, Int. 1 Congr. Ser. 113, 1028 (1967).
32. *Higuchi T.*, J. Pharm. Sci. 52, 1145 (1963).
33. *Desai S.J., Simonelli A.P. et Higuchi W.*, J. Pharm. Sci. 54, 1459 (1965).
34. *Desai S.J., Singh P., Simonelli A.P. et Higuchi W.*, J. Pharm. Sci. 55, 1224 (1966).
35. *Desai S.J., Singh P., Simonelli A.P. et Higuchi W.*, J. Pharm. Sci. 55, 1230 (1966).
36. *Desai S.J., Singh P., Simonelli A.P. et Higuchi W.*, J. Pharm. Sci. 55, 1235 (1966).
37. *Jaminet F.*, J. Pharm. Belg. 45, 227 (1963).
38. *Singh P., Desai S.J., Simonelli A.P. et Higuchi W.*, J. Pharm. Sci. 56, 1542 (1967).

39. *Singh P., Desai S.J., Simonelli A.P. et Higuchi W.*, J. Pharm. Sci. 56, 1548 (1967).
40. *Sjögren J. et Fryklöf L.E.*, Farm. Revy 59, 171 (1960).
41. *Sjögren J.*, Dan. Tidsskr. Farm. 34, 189 (1960).
42. *Sjögren J. et Erwick M.*, Acta Pharm. Suec. 1, 219 (1964).
43. *Rowe R.C.*, Manuf. Chem. Aerosol News 46, 23 (1975).
44. *Farhadieh B., Borodkin S. et Buddenhagen J.D.*, J. Pharm. Sci. 60, 209 (1971).
45. *Farhadieh B.*, J. Pharm. Sci. 65, 1333 (1976).
46. *Ritschel W.A.*, Pharma Int. 3, 18 (1971).
47. HERCULES, Ethylcellulose, propriétés et emplois.
48. *Wagner J.*, Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics, Drug Intelligence Publications, Hamilton Illinois. 1ère éd. chap. 17, 1971, p. 110.
49. *Cooper J. et Rees J.E.*, J. Pharm. Sci. 61, 1511 (1972).
50. *Hersey J.A.*, Mfg. Chem. Aerosol News 40, 32 (1969).
51. *Pernarowski M.*, dans Dissolution Technology, Leeson L.J. et Carstensen J.T., The industrial Pharmaceutical Technology, Section of the Academy of Pharmaceutical Science, 1974.
52. *Cooper J.*, Drug Cosmet. Ind. 81, 312 (1957).
53. *Royal J.*, Drug Stand. 26, 41 (1958).
54. *Royal J.*, Drug Stand. 27, 1 (1959).
55. *Campbell D.G. et Theivogt J.G.*, Drug Stand. 26, 73 (1958).
56. *Vliet E.B.*, Drug Stand. 27, 97 (1959).
57. *Souder J.C. et Ellenbogen W.C.*, Drug Stand. 26, 77 (1958).
58. *Sjögren J. et Erwik M.*, Acta Pharm. Suec. 1, 219 (1964).

59. *Turi P., Dauvois M. et Michaelis A.F.*, J. Pharm. Sci. 65, 806 (1976).
60. *Lazarus J. et Cooper J.*, J. Pharm. Pharmacol. 11, 257 (1959).
61. *Lazarus J. et Cooper J.*, J. Pharm. Sci. 50, 715 (1961).
62. *Poole Y.W.*, Drug Inf. Bull. 3, 8 (1969).
63. *Ventouras K.*, Thèse Université de Genève, No 1746, (1976).
64. *Ritschel W.*, Angewandte Biopharmazie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH, Stuttgart, 1973, p. 396.
65. *Ritschel W.*, Dtsch. Apoth. Ztg 109, 236 (1969).
66. *Goldman R.*, U.S. Patent 3 039 933 (1962).
67. *Gumma A., Dermanci M.A. et Bel F.*, Pharm. Acta Helv. 47, 577 (1972).
68. *Simoons J.R.A.*, U.S. Patent 3 322 633 (1967).
69. *Kornblum S.*, U.S. Patent 3 632 739 (1972).
70. *Jeffries S.F.*, U.S. Patent 3 362 880 (1968).
71. *Stone J.M.*, U.S. Patent 3 089 818 (1963).
72. *Tachibana T. et Nakamura A.*, Kolloid Z. Polym. 203, 130 (1965).
73. *Stupak E. et Bates T.*, J. Pharm. Sci. 61, 400 (1972).
74. *Bates T.R.*, J. Pharm. Pharmacol. 21, 710 (1969).
75. *Mayersohn M. et Gibaldi M.*, J. Pharm. Sci. 55, 1323 (1966).
76. *Simonelli A., Mehta S.C. et Higuchi W.I.*, J. Pharm. Sci. 58, 538 (1969).
77. *Svoboda G.H., Sweeney M.J. et Walkling W.D.*, J. Pharm. Sci. 60, 331 (1971).
78. *Chiou W.L. et Riegelman S.*, J. Pharm. Sci. 58, 1505 (1969).

79. *Gibaldi M., Feldman S. et Bates T.R.*, J. Pharm. Sci. 57, 708 (1968).
80. *Stupak E. et Bates T.*, J. Pharm. Sci. 62, 1806 (1973).
81. *Asker A.F. et Withworth C.W.*, Pharmazie 30, 530 (1975).
82. *Reddy R.K., Khalil S.A. et Gouda M.W.*, J. Pharm. Sci. 65, 1753 (1976).
83. *Malone M.H., Hochman H.I. et Nieforth K.A.*, J. Pharm. Sci. 55, 972 (1966).
84. *Decato L., Malone M.H., Stoll R.G. et Nieforth K.A.*, J. Pharm. Sci. 58, 273 (1969).
85. *Goldberg A.H., Gibaldi M. et Kanig J.L.*, J. Pharm. Sci. 55, 482 (1966).
86. *Goldberg A.H., Gibaldi M., Kanig J.L. et Mayersohn M.*, J. Pharm. Sci. 55, 581 (1966).
87. *Goldberg A.H., Gibaldi M. et Kanig J.L.*, J. Pharm. Sci. 55, 487 (1966).
88. *Chiou W.L. et Riegelman S.*, J. Pharm. Sci. 60, 1281 (1971)
89. *Stoll R.G., Bates T.R., Nieforth A. et Swarbrick J.*, J. Pharm. Sci. 58, 1457 (1969).
90. *Findlay A.*, The Phase Rule, 9ème éd., Dover, New York, 1951, p. 447.
91. *Goldberg A.H., Gibaldi M. et Kanig J.L.*, J. Pharm. Sci. 54, 1145 (1965).
92. *Mullins J.D. et Macek T.J.*, J. Pharm. Sci. 49, 245 (1960).
93. *Lachmann L., Liebermann H.A. et Kanig J.L.*, The Theory and practice of Industrial Pharmacy, Philadelphie, 1970, p. 518.
94. *Gerald P.P. et Frost B.M.*, J. Pharm. Sci. 58, 1543 (1969).
95. *Simonelli A.P., Mehta S.C. et Higuchi W.I.*, J. Pharm. Sci. 65, 355 (1976).

96. *El-Gindy N.A., Karara A.H. et Abd El-Khalek M.M., Sci. Pharm. 44, 315 (1976).*
97. *Stevens L.A. et Padfield J.M., Exposé du 2.6.1977, 1er Congrès international de technologie pharmaceutique, Paris, 1977.*
98. *Chiou W.L. et Riegelman S., J. Pharm. Sci. 60, 1376 (1971).*
99. *Ventouras K. et Buri P., Pharm. Acta Helv. 51, 212 (1976).*
100. *Devise B., Delacourt-Thibaut A., Guyot J.C. et Traisnel M., Pharm. Acta Helv. 50, 432 (1975).*
101. *Ionesco-Stoian P., Florea V., Aiteanu E., Medianu M., Moldovan A. et Bogdan C., Ann. Pharm. Franç. 24, 367 (1966).*
102. *Rowe R.C., Thèse Université de Manchester, (1973).*
103. *Draper N. et Smith H., Applied Regression Analysis, John Wiley, New York, 1966, p. 104.*
104. *Gurny R., Thèse Université de Genève, No 1754, p. 102, (1976).*
105. *Nie N.H. et coll., SPPS, 2ème éd., McGraw-Hill Company, Book Comp. 1975.*
106. *Wagner J.G., Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics, Drug Intelligence Publications, Hamilton, Illinois 62341, 1st ed., 1971, p. 237.*
107. *Skelly J.P., Bioavailability Policies and Guideliness presented at the 13th Annual International Industrial Conference on Lake Travis, Austin, Texas, 1974.*
108. *The editors: Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics, 1.4.1973.*
109. *Guideliness for Biopharmaceutical Studies in Man, A.Ph.A. Academy of Pharmaceutical Sciences, Washington, D.C. Appendix 1, 17, 1972.*
110. *Bioavailability of drugs, Principles and problems, Report of a WHO Scientific group, Wld. Hlth. Org. Techn. Rep. Ser. No 536, 1974.*

111. *Dost F.H.*, Schweiz. Rundschau Med. 63, 1251 (1974).
112. *Johnsson J.G. et Gegardh C.G.*, Clin. Pharmacokin. 1, 233 (1976).
113. *Notari R.E.*, Biopharmaceutics and pharmacokinetics, an introduction, Marcel Dekker, Inc. New York, 1971, p. 163.
114. *Balant L., Revillard C. et Garrett E.R.*, Schweiz. Med. Wochenschr. 106, 33 (1976).
115. *Ritschel W.A.*, Handbook of basic Pharmacokinetics, Drug Intelligence Publications, Hamilton, II.62341, 1st ed., 1976, p. 174.
116. *Brownel G.L., Berman M. et Robertson J.S.*, Nomenclature for Tracer Kinetics, Int. J. Appl. Radiat. Isotop. 19, 249 (1968).
117. *Revillard C., Griesen M., Perrier C.V. et Scherrer J.R.*, Int. J. Bio-Med. Comput. 6, 131 (1975).
118. *Garrett E.R.*, Textbook of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics: in preparation.
119. *Mészáros Z.*, Communication personnelle, 1976.
120. *Wagner J.G.*, Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics, Drug Intelligence Publication, Inc. Hamilton, Illinois 62341, 1st ed., 1971, p. 297.
121. Hewlett-Packard, Calculator 9810, Math Pac. Calculator Products Division, Loveland, 1971.
122. *Gesztesi A. et Leszkoszy L.*, Laboratorium der Fabrik Chemische Pharmazeutische Produkte, Chinoïn, 6.6.1974.
123. *Ledley R.S.*, Use of Computers in Biology and Medicine, New York, 1965.
124. *Garrett E.*, J. Pharm. Sci. 55, 626 (1966).
125. *Nagy J.*, Test report, 1963.
126. *Biro L., Graber H. et Yvan E.*, Report on the testing of the drug NO-SPA, 1966.

127. *Gürtler H., Hagemann H. et Knobe M., Th. Hung. 15, 4 (1967).*
128. *Hauschild F., Pharmakologische Untersuchungen über das Spasmolytikum NO-SPA der Fabrik Chinoin, Fabrik Chinoin, 1966.*
129. *Nelson F., Experimentelle Untersuchungen über die chronische Toxizität von NO-SPA.*

* * * * *

